



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **91209** (13) **C2**
(51) **МПК (2009)**
A61K 33/38
A61P 31/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) КОМПОЗИЦІЯ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА У ВОДІ

1

(21) a200708939
(22) 30.12.2005
(24) 12.07.2010
(86) PCT/US2005/047699, 30.12.2005
(31) 60/641,521
(32) 05.01.2005
(33) US
(31) 60/697,079
(32) 07.07.2005
(33) US
(31) 60/702,494
(32) 26.07.2005
(33) US
(46) 12.07.2010, Бюл.№ 13, 2010 р.
(72) ХОЛЛАДЕЙ РОБЕРТ, US, МЬОЛЛЕР ВІЛЛЬ-
ЯМ, US, МЕХТА ДІЛІП, IN, БРУКС ДЖУЛІАНА Х.
ДЖ., US, РОЙ РУСТУМ, US, МОРТЕНСОН МАРК,
US
(73) ХОЛЛАДЕЙ РОБЕРТ, US, МЬОЛЛЕР ВІЛЛЬ-
ЯМ, US, МЕХТА ДІЛІП, IN, БРУКС ДЖУЛІАНА Х.
ДЖ., US, РОЙ РУСТУМ, US, МОРТЕНСОН МАРК,
US
(56) US 4 828 832 A, 09.05.1989
US 5 961 886 A, 05.10.1999
US 4 376 764 A, 15.03.1983
US 3 639 575 A, 01.02.1972
US 3 303 090 A, 07.02.1967
US 4 952 411 A, 28.08.1990
US 6 749 597 A, 15.06.1990
CN 1 236 620 A, 01.12.1999
DE 630 404 A, 28.05.1936
(57) 1. Композиція срібла у воді, що включає загалу концентрацію срібла від близько 5 до близько 40 частин на мільйон, причому зазначене срібло знаходиться у формі наночастинок срібла, що мають внутрішню частину з елементного срібла і поверхню щонайменше з одного оксиду срібла, де більшість частинок срібла мають максимальний діаметр менше ніж 0,015 мікрометрів, і де більшість частинок колоїдного срібла мають мінімальний діаметр більше ніж 0,005 мікрометрів, і де композиція проявляє антимікробні властивості.

2

2. Композиція за п. 1, яка **відрізняється** тим, що містить пероксид водню.
3. Композиція за п. 2, яка **відрізняється** тим, що концентрація пероксиду водню складає від близько 1 % вага/об'єм до близько 3,0 % вага/об'єм.
4. Композиція за п. 1, яка **відрізняється** тим, що містить EDTA.
5. Композиція за п. 4, яка **відрізняється** тим, що зазначена EDTA містить динатрієву сіль EDTA.
6. Композиція за п. 1, яка **відрізняється** тим, що композиція містить гідрогель, утворений розчиненням гідрофільного полімеру в композиції срібла у воді.
7. Композиція за п. 6, складена як аморфний гель.
8. Композиція за п. 6, складена як твердий гелевий лист.
9. Композиція за п. 8, яка **відрізняється** тим, що гідрофільний полімер вибирають з групи, що містить желатин, карбогідратні полімери і співполімери акрилової кислоти.
10. Композиція за п. 9, яка **відрізняється** тим, що карбогідратний полімер містить принаймні один полімер, вибраний із групи, яка включає похідні целюлози, альгінат, карагінан і рослинні смоли.
11. Композиція за п. 1, що додатково включає щонайменше один матеріал, вибраний із групи, що містить AgEDTA, срібну сіль EDDS, куркумінат срібла, берберин срібла та тетрациклін срібла.
12. Спосіб лікування хвороб, вибраних із групи, що включає: малярію, грибкові інфекції шкіри, бактеріальні інфекції шкіри, вагінальні інфекції, інфекції сечовивідних шляхів, тонзиліти, запалення ниркових мисок, фарингіт, гонорею, кон'юнктивіт, отит, інфекції дихальних шляхів і назальні інфекції, при якому вводять аліквоту композиції за п. 1 людині із зазначеною хворобою.
13. Спосіб за п. 12, при якому додатково додають вибрану антибіотичну дозу, причому зазначена вибрана антибіотична доза заснована на антибіотиках, які мають щонайменше будь-яку відому ефективність проти зазначеної хвороби.

(19) **UA** (11) **91209** (13) **C2**

Галузь винаходу

Даний винахід у цілому відноситься до нових сумішей срібло/вода (які іноді знаходяться у формі наночастинок срібла, що дисперговані у воді), і більш детально до нових композицій і/або морфологій сумішей срібло/вода, гідрогелів срібла, новим композиціям срібла, що комбіновані із сучасними антибіотиками і різними лігандами, які зв'язані з іонами срібла, гелями срібла, що основані на певних початкових сумішах срібло/вода, іонах срібла і/або метали(ах), зв'язаному з тим, що міститься у певних клатратах, таких як глини і/або цеолітні матеріали, і до методів створення і застосування названих композицій як агентів проти різних мікроорганізмів (включаючи деякі віруси), небезпечних для здоров'я і нормального самопочуття людей і/або тваринних або інших організмів. Більш того, у даному винаході також розкриваються інші метали в доповненні до срібла і можуть бути застосовані взаємозамінно щодо срібла у багатьох випадках. Також розкриваються різні комбінації і концентрації композицій за даним винаходом.

Опис рівня техніки

Добре відомо, що певні препарати срібла виявляють бактерицидні властивості. Срібло застосовувалось як бактерицидний засіб і як антибіотик до того, як розробили сучасні антибіотики. У попередніх сторіччях, споживачі зскрібали частки срібла у свою питну воду або занурювали цілий шматок срібла у питну воду, для того, щоб споживати усередину срібло з питною водою. Імовірно, що звичай приймати їжу зі срібних наборів (а саме, зі столового срібла) може брати свій початок у вірі в оздоровлюючі властивості срібла.

Існує багато причин того, чому введення срібла, суспендованого у розчині, буде поліпшувати здоров'я індивідууму. Можливо, що такі розчини інгібують ріст бактерій, вірусів і інших небажаних організмів, а також знищують існуючі бактерії, віруси й інші організми. Також можливо, що композиція срібла може мати протизапальні ефекти, достатні для зниження, наприклад, набрякання, опікових ускладнень і певних симптомів астми.

Перший варіант здійснення даного винаходу описує застосування композиції срібла у воді для лікування певних захворювань людини (або, наприклад, тварин). Один варіант застосування винаходу містить композицію срібла, що включає наночастинок срібла (а саме, велика частина яких складає 10-50 нанометрів у діаметрі) і яка, у кращому варіанті здійснення, може містити внутрішню частину з металевого срібла і зовнішню оболонку або поверхню, відмінну від зазначеної внутрішньої частини (а саме, покриття іонного срібла, покриття з одного або декількох оксидів срібла, наприклад, різні композиції і/або різні фази і т.і.), частинки яких суспендовані у воді (а саме, очищеній воді). У наступному кращому варіанті здійснення, щонайменше, 90% таких частинок мають діаметр 10-50 нанометрів. Кращий варіант здійснення винаходу включає композицію срібла, що містить частинки срібла (включаючи деякі частинки срібла, покриті оксидом срібла), де більш ніж 50% кількості частинок мають розмір менше, ніж 0,015 мікрометрів, і

частинки є колоїдно суспендованими (а саме, не осідають) у воді. Інший кращий варіант здійснення винаходу включає частинки, де близько 95% частинок мають діаметр 10-40 нанометрів. У наступному варіанті здійснення близько 95% частинок мають діаметр 10-30 нанометрів.

Короткий опис винаходу

Даний винахід у цілому відноситься до застосування срібла, на рівні від 5 до 40 ppm у воді (але в деяких випадках менше, ніж 5 ppm), для або знищення, або інактивації мікроорганізмів (включаючи певні віруси), що небезпечні для людей і/або тваринних або інших живих організмів. Також даний винахід специфічно стосується композицій, що включають наночастинок срібла, зазначені частинки, у кращому варіанті здійснення, включають, наприклад, внутрішню частину елементарного срібла і зовнішнє покриття або часткове покриття або шар, наприклад, одного або декількох оксидів (оксиду) срібла (наприклад, іонний оксид срібла, оксиди срібла, такі як Ag_2O , Ag , Ag_4O_4 і т.і.), зазначені покриття оксидів бувають у різних фазових станах (наприклад, Ag_2O буває моноклінічним і/або тетрагональним) і воду, де частки срібла розташовані в суспензії (наприклад, колоїдній суспензії) у воді на рівні 5-40 ppm загальної кількості. Один варіант здійснення даного винаходу включає наночастинок срібла (далі в описі винаходу необхідно розуміти, що застосування терміна "частинка(и) срібла" або подібні у випадку, якщо вони отримані у відповідності електрохімічним технологіям, розкритим у даному описі, відноситься не тільки до елементарного срібла, але також до частинок елементарного срібла, що можуть мати часткове або, в більшому ступені, повне покриття з одного або декількох композицій, таке (такі) покриття, що включають один або більш оксидів срібла на, щонайменше, частині їх) є присутнім у воді (переважно очищеній воді, що обговорюється в даному описі нижче), у концентрації 5-40 ppm, де більш ніж 50% частинок срібла має максимальний розмір менше, ніж 0,015 мікрометрів. У кращому варіанті здійснення, більшість частинок мають 10-40 нм у діаметрі. У більш кращому варіанті здійснення більшість частинок мають 10-30 нм у діаметрі. Композиція срібла у воді (а також частки срібла, що виділені як практично окремі частки із сумішей срібло/вода, зроблених відповідно до композиції), а також суміші срібло/вода, зроблені відповідно до технологій даного винаходу і пізніше введені до складу гелю, пудри, або глини цеоліту (як обговорюється в кращих варіантах здійснення нижче в даному описі), відповідно до технологій за даним винаходом, є, наприклад, дуже ефективним протимікробним агентом(ами) і противірусним агентом(ами) (і в деяких випадках також протипаразитним). Даний винахід також стосується композицій срібла, 5-40 ppm срібло у воді і які, відповідно до способів застосування зазначених композицій срібло/вода, розкритих тут, є дуже ефективними як протимікробні агенти при використанні зазначених композицій у такий спосіб: (1) застосування усередину живими організмами; (2) застосування зовнішньо живими організмами, а також зовнішньо (або усередину) на різні поверхні, як тверді, так і пористі

(наприклад, кухонні столи, поверхні готування їжі, устаткування для готування їжі, поверхні в лікарнях, медичні інструменти, водопроводи (металеві і/або пластикові), прилади фільтрації повітря і т.д.); і (3) додавання срібла або композицій срібло/вода до забрудненої води (наприклад, обробка стічних вод, водяного резервуару, забруднених водяних ємностей, водопроводів і т.і., що, переважно, мали великі тверді частки, вилучені з них перед зазначеним додаванням для здійснення процесу очищення води.

Один кращий варіант здійснення даного винаходу стосується композицій срібла у воді, що отримані з використанням модифікації приладу і/або способів, описаних у Патенті США №6214299 ("Патент '299"), що спеціально включений у даний опис за допомогою посилання. Також композиції інших металів, таких як, наприклад, мідь (і сплави міді), цинк, платина і титан, а також їхні сплави і суміші) можуть бути використані для створення інших бажаних метал/композицій, відповідно до способів даного винаходу, що також мають несподівану ефективність.

Прилад і спосіб за Патентом '299 були модифіковані й удосконалені для забезпечення композиції срібла за даним винаходом, процес якого описаний у даному описі нижче дуже детально. По суті, прилад з восьми срібних/одного звичайного електрода, як описано у Патенті '299, був модифікований і відмасштабований для відповідності більшому (наприклад, 75-85 галонів) водяному резервуару. Для здійснення процесу одержання композиції срібло/вода в ємності 75-85 галонів, приблизно 70-75 галонів чистої води (наприклад, фільтрованої води, води із системи зворотного або осмосу води, що не містить великих кількостей потенційних забруднювачів і т.і.), що звичайно містить менше, ніж 2 ppm загальної кількості нерозчинних твердих частинок, або навіть більш переважно, менше, ніж 1 ppm загальної кількості нерозчинних твердих частинок, поміщають у резервуар. До цього додають, у кращому варіанті здійснення, приблизно п'ять галонів композиції срібло/вода, отриманої на попередньому етапі виробництва. Це "попередня обробка" із приблизно 5 галонами є допоміжною, але не обов'язковою. Попередня обробка, по суті, забезпечує присутність необхідної кількості провідних частинок срібла так, щоб струм міг текти між різними електродами, коли необхідна напруга/струм доступна протягом відносно короткого проміжку часу. Така "попередня обробка" також призводить до небагато менших початкових "конусів Тейлора", що обговорюються нижче в даному описі. Резервуар води оснащений входом повітря (звичайно локалізованим біля дна водяного резервуару), що дозволяє потоку пухирців повітря текти через рідину вода/срібло протягом її одержання. Виявлено, що цей підхід призводить до очевидно удосконаленого змішування у порівнянні з лопатевим змішувачем, який описаний у Патенті '299, що доведено певними підвищеними ефективностями.

Електродний прилад(и) приводиться в дію при напрузі (щонайменше, спочатку) порядку приблизно десять тисяч вольт перемінного струму (з кожним положенням срібного електрода, що має інди-

видуальну подачу напруги), як описано в Патенті '299. Напруги, що значно більші, ніж десять тисяч вольт, мають тенденцію до виробництва розчину, що може мати значну кількість іонного срібла, розчиненого в ньому. Дана композиція містить у надлишку 97% частинок металевого срібла, що присутнє у кількості 5-40 ppm, по суті, с маленькою присутністю або відсутністю вільного іонного срібла в розчині срібло/вода.

Концентрація срібла визначається способами, що пояснюються нижче. По суті, 75 галонів приладу для одержання композиції срібло/вода приводиться в рух безупинно і зразки з приладу аналізують доти, поки досягають бажаної ppm концентрації срібла у воді. Виявлено, що при умовах проведення, описаних у даному описі, 10 ppm композиції срібло/вода вимагає приблизно одного або півтора днів одержання; 22 ppm композиції срібло/вода вимагає приблизно трьох днів одержання, і 32 ppm композиції срібло/вода вимагає приблизно шість днів одержання. Швидкість формування частинок срібла в композиціях срібло/вода виявляється тим повільніше, чим вище концентрації частинок срібла бажано одержати. Коли бажано, щоб концентрації срібла в композиціях срібло/вода були вище 50 ppm, беруть відносно тривалий проміжок часу для досягнення, дотримуючи виробничих параметрів, описані нижче, найвищою концентрацією, що досягає значень близько 50 ppm при необхідному проміжку часу. Якщо необхідно, можливі більш високі концентрації частинок срібла. Проте, ефективність більш низьких концентрацій частинок срібла проти різних патогенів була настільки значною, що більш високі концентрації частинок срібла не є необхідними в даний момент.

Наночастинки срібла в композиціях срібло/вода усі мають подібний загальний розмір частинок і характеристики форми, що описані нижче в частині характеристики більш детально, і не схожі на будь-які стандартні композиції "колоїдного срібла", ці композиції срібло/вода повністю безбарвні і значно стабільні відносно помірних змін світла і температури, без необхідності застосування будь-яких добавок для підтримки стабільності (які вимагають і/або використовують будь-які відомі з рівня техніки типи колоїдного срібла). Припускають, що компоненти і етапи комерційного процесу, що застосовуються, роблять композицію срібло/вода, що відрізняється від інших продуктів, відомих як "колоїдне срібло" таким чином, визначає більш високу ефективність композицій срібло/вода. Деякі характерні відмінності фізичних властивостей (наприклад, розмір частинок, композиція, патерн спектроскопії і т.і.) нових композицій срібло/вода даного винаходу обговорюються більш детально нижче в даному описі.

Композиції срібло/вода відповідно до винаходу також, по суті, є нереактивними відносно багатьох матеріалів, що до них додають, включаючи, наприклад, або окремо, або в комбінації, (1) перекис водню, (2) динатрій EDTA (динатрій етилендіамінтетраоцтової кислоти), що дійсно можуть діяти як підсилювачі композицій срібло/вода (наприклад, можуть робити композиції срібло/вода навіть більш ефективними), (3) йод (наприклад, йод пові-

дон, що у деяких випадках може виявляти середню реактивність), що може допомагати композиціям срібло/вода бути навіть більш патогенними проти різних патогенів і (4) різні комерційно доступні антибіотики (які дійсно можуть призводити до певних синергетичних ефектів, що проявляються між композиціями срібло/вода і антибіотиками, у такий спосіб призводять до того, що може реалізуватися потенціал для нових і бажаних комбінованих терапій). Відповідно, різні додаткові матеріали або речовини можуть бути використані в комбінації з (наприклад, доданий до або постачений) новими композиціями срібло/вода даного винаходу для збільшення, синергетичним чином бажаних ефектів, що можуть виявляти будь-який матеріал самостійно. Специфічно, у багатьох випадках (наприклад, комбінації антибіотиків), отримані комбіновані ефекти є синергетичними і перевищують індивідуальні додаткові ефекти будь-якого матеріалу або речовини окремо, якщо вони комбіновані (наприклад, $2+2=6$). Звичайно, деякі з можливих допоміжних речовин, що будуть покривати нові композиції, придатні тільки як місцеве або зовнішнє лікування через їхню потенційну внутрішню токсичність у біологічному організмі (наприклад, для людей і тварин). Кількість необхідних допоміжних речовин може варіювати в залежності від багатьох обставин, включаючи часткове ураження (наприклад, вірусом, бактерією, паразитом і т.і.) або інфекцію, кількість інших матеріалів, присутня на додаток до допоміжних речовин і т.д. Незважаючи на це, точна кількість необхідної допоміжної речовини буде визначатися методикою експеримента спеціалістом у даній області. Крім того, концентрації суміші срібло/вода можуть також впливати на кількість необхідної допоміжної речовини, також визначатися методикою експерименту спеціалістом даної області.

Один приклад бажаної допоміжної речовини - це перекис водню. Перекис водню є відомим дезинфікуючим агентом. Виявили, що перекис водню має синергетичну взаємодію зі знайденими композиціями срібло/вода відповідно до винаходу. Перекис водню доступний у концентраціях, наприклад, 30% по вазі (% ваги на об'єм або об'єм на ваговий відсоток) або навіть вище. Незважаючи на те, що високі концентрації є прийнятними, переважні концентрації для використання з композиціями срібло/вода даного винаходу виявляються 30% або нижче і переважніше, падають до діапазону 1-5% по вазі.

Один переважний варіант здійснення даного винаходу відноситься до композицій, що включають 5-40 ppm частинок срібла, 1-3 ваг. % перекису водню, а інше - вода (наприклад, фільтрована або суттєво очищена вода). Інший переважний варіант здійснення даного винаходу - це застосування і спосіб застосування композицій, що включають 10-40 ppm срібла і 1-3 ваг. % перекису водню у воді у якості протимікробних агентів.

Інший приклад допоміжної речовини, що працює переважно з композиціями срібло/вода даного винаходу - це динатрій етилендіамінтетраоцтова кислота, також відомий як "Натрій EDTA" або "динатрій EDTA" (посилання на кожний з них іноді зустрічається в літературі) і який може мати на-

ступну хімічну формулу: $(\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{COOH})\text{CH}_2\text{COONa})_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$. В іншому переважному варіанті здійснення винаходу, маленька кількість (наприклад, 0,5-10 ppm, або більш переважно 0,5-5 ppm, або навіть більш переважно близько 0,5 ppm) динатрій EDTA додають до або постачають композиції срібло/вода відповідно до даного винаходу. У цьому варіанті здійснення, здається, що нібито додавання маленької кількості динатрію EDTA збільшує силу (наприклад, збільшує бактерицидні, дезинфікуючі і/або протимікробні властивості) композиції срібло/вода. Без бажання зв'язати з будь-якою окремою теорією або поясненням, можливо, що динатрій EDTA може збільшувати проникність клітинної стінки, що може підсилювати загальні ефективності композицій срібло/вода відповідно до даного винаходу. Інший переважний варіант здійснення даного винаходу - це застосування і спосіб застосування композицій, що включають 10-40 ppm срібла і 0,5-10 ppm динатрій EDTA у воді в якості протимікробного агента, бактерицидного агента і/або дезинфікуючого засобу.

Інший приклад допоміжної речовини, що працює переважно з композиціями срібло/вода даного винаходу - це йод-повідон. Йод є добре відомим профілактичним засобом у медицині для лікування широкого спектра патогенів. Йод є комерційно доступним у різних концентраціях, але звичайно використовується, і переважно є концентрація 10%. У цьому переважному варіанті здійснення винаходу синергетична комбінація, що включає близько 25-50% по об'єму суміші срібло/вода, витісняє 10% розчин йоду. Поки можливі деякі реакції між сумішшю срібло/вода і йодом, з експериментальних результатів, що обговорювались нижче, стає зрозуміло, що синергетична комбінація срібло/вода з йод-повідоном може функціонувати як місцевий дезинфікуючий засіб (наприклад, мазь) і/або як профілактичний засіб проти інфекції в порізах, опіках і/або зскрібках і т.і. Інший переважний варіант здійснення даного винаходу - це застосування і спосіб застосування композицій, що включає 10-40 ppm срібла і йод-повідону у воді в якості протимікробного агента, бактерицидного агента, протівірусного агента і/або дезинфікуючого засобу.

Інший переважний варіант здійснення винаходу застосовує композиції срібло/вода даного винаходу у комбінації з різними доступними антибіотиками в підході, відомому як комбінована терапія. Комбінована терапія становить великий інтерес, тому що в останніх двох десятиліттях широко поширилася резистентність до антибіотиків і тому є предметом глобальної проблеми. Інфекції, викликані грамнегативними бактеріями, такими як *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Shigella* і *Pseudomonas*, викликають все більший інтерес, тому що ці організми набули множинну лікарську резистентність до антибіотиків. Недавні дослідження з вивчення схеми резистентності грамнегативних клінічних ізолятів, що викликають госпітальні інфекції, показали, що більшість ізолятів були резистентними до звичайних антибіотиків подібних до ампіциліну, гентаміцину, хлорамфеніколу, котримоксазолу, і першому і другому поколінню цефалоспоринов. Також приблизно 70% цих ізолятів були резистентними до ципрофлоксацина.

У цьому варіанті здійснення винаходу, суміші срібло/вода (або комбіновані як рідина, або висушені і додані як тверді речовини, таким чином, формуючи, наприклад, порошок, на який іноді посилаються як на "Sildust"), у випадку, коли вони комбіновані з різними антибіотиками, виявляли синергізм скоріше, ніж просто властивості допоміжної речовини. Аналізи методом «шахівниці» показали, що певні антибіотики при комбінуванні із сумішами срібло/вода дають у результаті антибіотики, що у кілька разів більш ефективні, ніж срібло окремо (наприклад, суміші срібло/вода, комбіновані з амікацином і цефоперазоном, показали FIC індекс близько 0,1875, у порівнянні з двома антибіотиками, використаними в комбінації один з одним, що давало FIC індекс 0,625, якщо дві комбінації використовували проти, наприклад, MRSA (резистентного до метициліну *Staphylococcus aureus*)), що обговорюється більш детально нижче в описі. Інший переважний варіант здійснення даного винаходу - це застосування і спосіб застосування композицій, що включають 10-40 ppm срібла і різні антибіотики як протимікробний агент і/або бактеріцидний агент і/або протівірусний агент для способів лікування, на які посилаються як на "комбіновані терапії". Точна кількість (і концентрація) сумішей срібло/вода за даним винаходом, що може бути доданою до традиційних способів терапії антибіотиками, визначається методикою експерименту. Зокрема, специфічна хвороба, яку лікують специфічним курсом антибіотика (а також ефективність антибіотика проти патогену) буде впливати на кількість і концентрацію необхідної суміші срібло/вода.

Незважаючи на велику кількість аналізів, що застосовуються для розчинів срібло/вода окремо або в комбінації з різними допоміжними речовинами, представлених нижче, також в описі показано, що певні наповнювачі можуть значно поліпшити результати, отримані від розчинів срібло/вода в різних ситуаціях. Специфічно виявлено, що складання водяної композиції срібло/вода як напівтвердий гідрогель (іноді нижче в описі на нього посилаються як на "Silgel" або за іншою версією як "Silderm"), або навіть шматочки такого матеріалу, значно збільшує її ефективність для певних типів введення. Гідрогелі є типово гідрофільними гелями, отриманими шляхом додавання певних гідрофільних органічних полімерів до водяного розчину - у даному випадку розчин, що містить заявлений розчин срібло/вода. Проте, очікували, що інші розчини "колоїдного срібла" можуть також входити до складу гідрогелів, відповідно до методик, описаними тут, і хоча такі гідрогелі можуть і не бути настільки ефективними, як гідрогелі відповідно до даного винаходу, ці гідрогелі можуть, проте, мати певне бажане застосування. Відповідно, даний винахід також направлений на розкриття певних аспектів цих гідрогелів. Як і передбачалося, гідрогель поліпшує утримання срібла на площі поверхні, такої як рана на площі поверхні шкіри. Для догляду за раною гідрогель або покриваючий матеріал також мають значну перевагу для захисту тканин, що оточують рану і попередження висихання, ці фактори звичайно сприяють загоєнню рани. Більш значно те, що гідрогель практично не

виявляє обмежуючої дії стосовно протимікробних властивостей наночастинок срібла відповідно до даного винаходу. Крім того, ці гідрогелі функціонують як високоефективні очисники рук і шкіри, також як і шкірні захисні засоби (наприклад, нанесення гідрогелю на руку(и) для того, щоб у випадку контакту рук(и) з патогенами, гелевий шкірний захисний засіб може допомагати запобігти інфекції через, наприклад, порізи або садни, тому вони функціонують як профілактичні засоби), у такий спосіб це робить гелі широко використовуваними у сфері охорони здоров'я або підтримки гарного самопочуття.

Зокрема вважають, що чисті руки є найважливішим фактором у запобіганні поширення небезпечних мікроорганізмів і резистентності до антибіотиків у підтримці здоров'я. Найбільш гігієнічні засоби для миття рук, що застосовуються в сучасних медичних умовах, основані на спирті і мають ряд обмежень. Перше місце серед обмежень є порушення шкіри, що викликається повторним нанесенням продуктів, основаних на спирті. У деяких випадках відзначають (1) подразнюючим контактний дерматит також як і (2) алергійний контактний дерматит. Це знижує задоволення від застосування гігієнічних продуктів для рук працівниками охорони здоров'я.

Інший фактор, що викликає незадоволення ефективністю гігієни рук, є той факт, що, продукти гігієни рук, які є рідинами, звичайно нерухомо зафіксовані над умивальниками або раковинами. Це призводить до того, що медперсонал пересувається від ліжка пацієнта до умивальника і повертається до наступного пацієнта. Якщо засіб для очищення рук буде доступним у якості "натирання, що наноситься", то цю проблему можна обійти, тим самим, забезпечивши краще задоволення від його використання. Показано, що гідрогелеві продукти даного винаходу значно знижують кількість бактерій контрольних організмів, протягом пролонгованих періодів часу, що обговорюється більш детально в описі, тим самим забезпечуючи конкурентний альтернативний продукт гігієни для рук. Відповідно, що гідрогелеві продукти даного винаходу також продемонстрували широке застосування як "шкірні захисні засоби", захищаючи нормальну здорову шкіру від різних патогенних матеріалів у профілактичних цілях.

В іншому переважному варіанті здійснення винаходу, продукт, що оснований на сріблі, може, щонайменше, частково, або в деяких випадках, по суті, повністю, бути заміщеним композиціями срібло/вода відповідно до даного винаходу. Специфічно було виявлено, що срібло EDTA (або AgEDTA) саме по собі має значні протимікробні характеристики. Зокрема, як вказувалося вище, динатрій EDTA застосовують як допоміжну речовину для композицій срібло/вода відповідно до даного винаходу. Проте, EDTA (етилендіамінтетраоцтова кислота) є чудовим синтетичним хелатуючим агентом. EDTA (C10-H16-N2-O8) можна використовувати в їжу людини, і його часто додають у безалкогольні напої як консервант. EDTA також використовується в терапії хелатування важких металів для людини. Проте, не розглядалося застосування AgEDTA у якості протимікробного

засобу (наприклад, окремо або в комбінації з іншими терапіями, такими, що розкриті в описі). Товари масового споживання, такі як м'ясна або білкова продукція й обробна промисловість, виробництво мила, виробництво детергентів (наприклад, індивідуальні і побутові продукти), сільськогосподарська або тваринницька галузь і галузь охорони здоров'я можуть бути придатними для порошкоподібної форми стабільного срібла, що може забезпечити високий рівень здоров'я і самопочуття (наприклад, як терапевтично, так і профілактично). Зокрема, AgEDTA на даний момент є доступним і відносно простим у виробництві, збереженні і транспортуванні. Цей варіант здійснення винаходу визначає нове застосування для AgEDTA, тобто, застосування порошку AgEDTA для здоров'я або гарного самопочуття людей, рослин і/або тварин і/або лікування певних порушень у тварин і людей (наприклад, може використовуватися як терапевтичний засіб і/або профілактичний). Akzo-Nobel постійно робить прийнятний AgEDTA. Інші срібло-хелатуючі або комплексують агенти, такі як, наприклад, EDDS срібла, куркумінат срібла, берберин срібла і тетрациклін срібла, що також виявляють протимікробні властивості і застосування цих матеріалів для здоров'я і гарного самопочуття людей або тварин, також є новими і невизначеними у рівні техніки. Різні інші органічні структури можуть бути використані для переносу і/або доставки срібла і/або іонів срібла до різних ефективних ділянок у або на біологічні структури. Ще раз кількість необхідного AgEDTA буде варіювати, у залежності від необхідних конкретних біологічних задач (наприклад, вигоди лікування і/або профілактика).

В іншому переважному варіанті здійснення винаходу, додаткові неорганічні продукти, що основані на сріблі, можуть бути, щонайменше, частково, або в деяких випадках, по суті, цілком заміщеними композиціями срібло/вода відповідно до даного винаходу. Специфічно, срібло (наприклад, іони срібла, метал срібла, Ag⁺) може контролювано приєднуватися або фіксуватися, наприклад, на або між шарами глини і/або усередині решітки цеолітів. Така фіксація може проходити шляхом контролювання заряду, наприклад, силікатного шару, заряду цеолітної решітки, також як і відстані між шарами або розміром цеолітної решітки. У цьому відношенні, срібло може приєднуватися або тісно, або зв'язуватися відносно вільно у залежності від окремого випадку здоров'я або загального стану і точка взаємодії між сріблом і біологічним матеріалом (наприклад, на поверхні біологічного матеріалу, або у внутрішній частині, або комбінації внутрішніх частин і т.і.). Відповідно, отримані продукти можуть включати продукти, що є досить плинними, і тому питними або такими, що розбризкуються; також як і продукти, що є гелеоподібними або пастоподібними і легко намазуються на поверхні, як гелі або пасти.

Будь-який з цих металів, що обговорюється в описі, може утримуватися усередині кристалічного й аморфного клатрату одного або декількох атомних шарів кисню або кисневмісних молекул. Показано, що певні структури метал/клатрат мають

несподівану ефективність. Крім того, у доповненні до срібла, включеному усередину або на структуру оксидного шару (наприклад, глини) і сітку (наприклад, цеоліти) можуть бути використані силікати, фосфати й оксиди, такі як гідроталцити. Крім того, бажані сімейства глини або слюди, які можна використовувати в даному винаході, (і які здатні мати різні поверхневі заряди і/або різні відстані між шарами) включають, наприклад, іліти, монтморілоніти, хлорити і вермикуліти.

Глини і слюди, також як і цеоліти, дуже необхідні як носії іона металу(ів) для різних цілей, включаючи частинки, що багато існують в природі або легко одержуються, можуть підтримуватися в необхідному діапазоні колоїдного розміру, що покривають їх, наприклад, суспендовані в рідинах (наприклад, воді), і звичайно є біологічно прийнятними (наприклад, невеликі побічні ефекти або їх відсутність). У цьому відношенні, коли срібло поміщають, наприклад, усередину або на глину, або цеоліт, молекули потім нагрівають до помірних температур (наприклад, 100-200°C) для фіксування срібла на поверхні або усередині клатрату. Усі ці матеріали можуть бути виготовлені в широкому діапазоні в'язкостей від плинної форми до дуже в'язкої.

Загалом, електронні рівні в таких елементах, як катіони, при будь-якій заданій валентності, можуть змінюватися, коли катіон елемента координується різними аніонами. Зокрема, чим більше утвориться ковалентних зв'язків, тим більше змінюються енергетичні рівні. Дуже імовірно, що зміни від малих до середніх в електронній структурі срібла будуть спостерігатися, коли срібло оточене (або скоординоване) різною кількістю оксидів-іонів. Ця зміна в електронній структурі для таких катіонів, як катіони срібла, повинна відбуватися в будь-яких з різних структур оксиду срібла. Крім цього, існує більш загальний спосіб, за допомогою якого срібло може займати місце в кисневому клатраті або решітці. У цьому відношенні шляхом обміну, наприклад, катіона натрію в структурі, з катіоном срібла, потім в обмінних або поглиблених просторах можуть знаходитись іони натрію (наприклад, або на або між шарами глини, або всередині сіток цеолітів). Загалом, здатність одного матеріалу обмінювати катіони, називають "СЕС" або "здатністю обмінювати катіони". Одиницями для СЕС типово є «мек/100 грам» або міліеквіваленти на сто грамів. Загалом, чим вище число СЕС, тим вище здатність матеріалу приєднувати катіони (наприклад, катіони срібла). Відповідно, сполуки срібла, що координують кисень, можуть служити переносником срібла (або інших металів) і бути, таким чином, здатними функціонувати як терапевтичні агенти самостійно або в комбінації з іншими терапевтичними агентами.

Крім того, срібло-метал або срібло-іони, що вбудовані в силікагель шляхом дифузії і сушіння, є також бажаними механізмами для доставки металу(ів) відповідно до даного винаходу.

В іншому переважному варіанті здійснення винаходу комбінації вищезгаданих частинок, органічні і/або неорганічні структури можуть бути використані для позитивного впливу на здоров'я і самопочуття людей і тварин. Специфічно, частки

металу, відповідно до винаходу, можуть бути використані окремо, як описано вище. Крім того, частки металу можуть комбінуватися з, наприклад, органічними речовинами, що обговорювались вище (наприклад, AgEDTA). Крім того, іони металу відповідно до даного винаходу можуть комбінуватися з будь-якими неорганічними речовинами (наприклад, глинами або цеолітами). Крім того, іони металу даного винаходу можуть комбінуватися як з органічними молекулами (наприклад, AgEDTA), так і з неорганічними молекулами (наприклад, глинами або цеолітами). Ця комбінація системи доставки металів срібла або іону срібла може бути сконструйована таким чином, щоб, наприклад, внутрішнє споживання будь-якої вищезгаданої системи доставки срібла може призводити до того, що вони доставляються до різних частин, наприклад, організму. Зокрема, наприклад, в організмах людей, певне срібло може абсорбуватися у роті, через кишку, також як і через товстий і/або тонкий кишечник і т.і. Крім того, у залежності від, наприклад, кількості глини(и) або цеоліту(ів) відносно води (також як і різні желеутворюючі речовини, описані тут) отриманий продукт(и) може бути від дуже рідкого (низька в'язкість) до дуже в'язкого (висока в'язкість). У цьому відношенні, загалом, чим більше глини або цеоліту забезпечується відносно води (також як і желеутворюючий агент), тим більше в'язким є кінцевий продукт.

Детальний опис винаходу

Наступний опис забезпечує можливість кожному спеціалісту в даній області зробити і використовувати винахід, і викладає кращі способи, передбачені винахідником по проведенню даного винаходу. Різні модифікації, проте, будуть очевидні для спеціалістів у даній області, тоді як основні принципи даного винаходу визначені специфічно в даному описі для забезпечення поліпшеної композиції срібло/вода (іноді в даному описі її називають наночастинки срібла, що дисперговані у воді), яка може бути використана самостійно або в комбінації з (наприклад, змішаною з або в супроводі з, по суті, сполученими) іншими розкритими матеріалами, і яка може бути складена в різні гідрогелеві або пастоподібні композиції, усі з яких виявляють значні здібності вбивати патогени людини і/або тварин як *in vivo*, так і *in vitro*.

Загалом, даний винахід представляє новий підхід у знищенні або інактивації мікроорганізмів, що небезпечні для людських істот і/або тварин, шляхом застосування наночастинок срібла у воді, при концентрації 5-40 ppm срібла; або активні частки срібла, що містяться в, наприклад, AgEDTA, і/або інших речовинах, розкритих в описі. У залежності від способу введення і/або присутності допоміжних речовин, композиція срібло/вода може застосовуватися внутрішньо або зовнішньо. У залежності від способу введення, композиція срібло/вода може також містити різні бажані допоміжні речовини, багато з яких не перераховані специфічно в описі, але для спеціаліста в даній області очевидно їх застосування.

Короткий опис графічних матеріалів

Фігури 1-6 показують TEM (трансмісійний електронний мікроскоп) фотомікрографії, що отримані при різних збільшеннях від частинок срібла, сфор-

мованих у композиціях срібло/вода, сформованих відповідно до даного винаходу.

Фігури 7a-7d показують TEM фотомікрографії, що створені в різних TEM, і з застосуванням різних технік з тих, що були використані для створення Фігур 1-6; і Фігура 7e показує EDS (енергорозсіююча рентгенівська спектроскопія) (EDAX (енергодисперсійний рентгенівський аналіз)) спектр частинок срібла, узятих з композиції срібло/вода відповідно до даного винаходу.

Фігура 8 показує електронну дифрактограму, отриману від частки срібла з композиції срібло/вода відповідно до даного винаходу.

Фігура 9 включає три SEM (скануючий електронний мікроскоп) фотомікрографії, що разом показують можливе ушкодження електронним променем на частках срібла, узятих з композиції срібло/вода відповідно до даного винаходу.

Фігура 10 показує SEM фотомікрографію нового срібного електрода перед його використанням у процесі відповідно до даного винаходу.

Фігури 11, 12 і 13 показують EDS елементарний аналіз областей 1, 2 і 3, відповідно, показаних на Фігурі 10.

Фігура 14 показує SEM фотомікрографію кінця електрода, що застосовується для одержання композицій срібло/вода відповідно до даного винаходу.

Фігури 15 і 16 показують EDS елементарний аналіз областей 1 і 2 відповідно, показаних на Фігурі 14.

Фігура 17 показує - це SEM фотомікрографія, що взята приблизно при 3500X кінця срібного електрода, що застосовується.

Фігури 18a і 18b - це TEM фотомікрографії частинок срібла, узятих з GNC Liquid Silver Dietary Supplement (25 ppm).

Фігури 19a і 19b - це TEM фотомікрографії частинок срібла, узятих із продукту колоїдного срібла, відомого як "Silverado".

Фігури 20a і 20b - це TEM фотомікрографії частинок срібла, узятих із продукту колоїдного срібла, відомого як Vitamin World Bioorganic Advanced Colloidal Minerals (3 ppm).

Фігура 21 - це порівняння, що перекривається, п'яти TEM фотомікрографій частинок срібла, дві з яких від частинок срібла з даного винаходу і три з яких від частинок срібла, узятих з комерційно доступних типів колоїдного срібла.

Фігури 22a і 22b показують сім різних спектрів Рамана, три з яких відповідають композиціям срібло/вода відповідно до даного винаходу, один відповідає чистій воді, один відповідає деіонізованій воді і два відповідають комерційно доступним продуктам колоїдного срібла.

Фігура 23 а показує два спектри Рамана, що відповідають композиціям срібло/вода за даним винаходом; і Фігура 23b показує три спектри Рамана, що відповідають трьом комерційно доступним продуктам колоїдного срібла.

Фігура 23 с показує інший спектр Рамана, що відповідає композиціям срібло/вода за даним винаходом.

Фігура 24a показує спектр Рамана композиції срібло/вода відповідно до даного винаходу; і Фігу-

ра 24b показує три спектри Рамана композицій срібло/вода, цинк/вода і мідь/вода.

Фігура 25 показує діаграму потенційних взаємодій у диско-дифузійному аналізі для бактеріальної сигнергічності.

Фігура 26 показує тарування методом «шахівниці» і графіки, що відбивають допоміжну речовину, синергетичні й антагоністичні ефекти в комбінованій терапії.

Фігура 27 показує фотографії чутливості MDR (стійких до ряду лікарських засобів) ізолятів до 10 ppm суміші срібло/вода.

Фігура 28 показує фотографії комбінацій антибіотиків для MRSA.

Фігура 29 показує фотографії комбінацій антибіотиків для *E. coli*.

Фігура 30 показує фотографії комбінацій антибіотиків для *Pseudomonas*.

Фігура 31 показує графік "поточної" прикладеної напруги, і поточної концентрації срібла як функції тривалості процесу, протягом якого відбувається процес формування композиції срібло/вода.

Фігура 32 показує графік поточної концентрації срібла як функції тривалості процесу з використанням атомної абсорбційної спектроскопії і методик, що вимірюють електропровідність, відповідно. Ця фігура також показує концентрацію срібла після 32 годин одержання, і після гомогенізації.

Фігура 33 показує графік поточної прикладеної напруги, фактора сили і концентрації срібла як функції тривалості процесу, протягом якого відбувається процес формування заявленої композиції срібло/вода.

Фігура 34 - це графік, що показує втрату вологи SILDERM.

Фігура 35 - це графік, що показує вбирання вологи SILDERM.

Фігура 36 - це фотографія, що показує антибактеріальну активність хелатів срібла (AgEDTA , вироблений Akzo-Nobel) проти *Pseudomonas aeruginosa* (MDR).

Фігура 37 - це фотографія, що показує антибактеріальну активність хелатів срібла (AgEDTA , вироблений Alpha Chemicals) проти *pseudomonas aeruginosa* (MDR).

Фігура 38 - це фотографія, що показує чутливість SILDUST проти *E. coli* (MDR).

Фігура 39 - це графік, що показує протівірусну активність SILDUST як функцію часу експозиції.

Фігура 40 - це фотографія центральної аналізованої чашки Петрі, що показує ріст стерильних плям.

Фігура 41 - це фотографія аналізованої чашки Петрі, що показує відсутність стерильних плям після трьох годин, і таким чином, показує антибактеріофагальну активність SILDUST.

Фігура 42 показує чотири дифракційні рентгенограми 200 ppm заявленої композиції срібло/вода; і чотири стандартних рентгенодифракційні накладені ряди (а саме, Ag , Ag_2CO_3 , Ag і Ag_2O).

Фігура 43 показує "TGA" аналіз (термогравіметричний аналіз) Ag_4O_4 , також як і "DTA" аналіз (диференційно-термічний аналіз) Ag_4O_4 .

Фігури 44a і 44b - це SEM фотомікрографії, що відповідають заявленій суміші каолініт/срібло, виготовленої відповідно до даного винаходу.

Фігури 45a і 45b - це EDS (EDAX) аналізи, що відповідають фотомікрографіям 44a і 44b, відповідно.

Фігура 46 - це SEM фотомікрографія нової суміші цеоліт/срібло, виготовленої відповідно до даного винаходу.

Фігура 47 - це EDS (EDAX) аналіз цеоліту Linde 4A, що містить заміщене їм срібло, і виготовлене відповідно до даного винаходу.

Фігура 48a показує спектр ультрафіолетової і видимої області спектра (UV-Vis) 10 ppm розчину срібло/вода і 32 ppm розчину срібло/вода при діапазоні довжини хвилі 190 нм - 400 нм (обидва приготувані відповідно до даного винаходу); і Фігура 48b показує спектр ультрафіолетової і видимої області спектра тих же зразків при діапазоні 190 нм - 250 нм.

Переважні варіанти здійснення

Нижче представлені переважні варіанти здійснення, що не обмежують:

Композиція, що включає наночастинки срібла, колоїдно-суспендовані у воді, при цьому загальний вміст срібла складає 5-40 ppm, зазначена композиція убиває або інактивує мікроорганізми, що небезпечні для людей і/або тварин.

Композиція, що включає наночастинки срібла, колоїдно-суспендовані у воді, при цьому загальний вміст срібла складає близько 10+2 ppm, зазначена композиція убиває або інактивує мікроорганізми, що небезпечні для людей і/або тварин.

Композиція, що включає наночастинки срібла, колоїдно-суспендовані у воді, при цьому загальний вміст срібла складає близько 22+2 ppm, зазначена композиція убиває або інактивує мікроорганізми, що небезпечні для людей і/або тварин.

Композиція, що включає наночастинки срібла, колоїдно-суспендовані у воді, при цьому загальний вміст срібла складає близько 32±3 ppm, зазначена композиція убиває або інактивує мікроорганізми, що небезпечні для людей і/або тварин.

Гідрогелева композиція, виготовлена з вихідної композиції срібло/вода, що включає наночастинки срібла, колоїдно-суспендовані у воді, при цьому загальний вміст срібла у вихідному матеріалі складає, переважно близько 32+3 ppm (але може бути більше або менше), зазначена гідрогелева композиція убиває або інактивує мікроорганізми, що небезпечні для організму людини і функціонує як, наприклад, очисник шкіри, засіб, що загоює рани, і/або шкірний захисний засіб або шкірний дезінфікуючий засіб.

Необхідно взяти до уваги, що визначення загальної кількості наночастинок срібла в композиції срібло/вода не цілком визначає матеріал. Тому що наночастинки, що включають композицію, виготовляються меншими, отримана концентрація срібла буде представляти більшу кількість частинок. Крім того, загальна площа поверхні для отриманої концентрації срібла буде збільшуватись. Таким чином, розміри частинок і діапазони розмірів частинок є важливими параметрами для визначення ефективності заявленої композиції срібло/вода. Крім того, покриття, такі як оксидні покриття (наприклад, часткові або майже повні) на зазначених частинках срібла можуть також впливати на ефективність композицій срібло/вода за даним винаходом.

дом, такі покриття по своїй суті походять від виробничих умов винаходу. Проте, очікується, що подібні покриття на частках срібла, що отримані іншими процесами (також як і метали, відмінні від срібла, такі як цинк, мідь, сплави міді, титан, платина, а також їхні сплави і суміші), також знаходяться в межах даного винаходу і зв'язані з ним. Відповідно, також як срібло, на яке посилаються в даному описі, застосування різних альтернативних металів, що обговорюються у даному описі, також повинне розглядатися як виявлена ймовірна ефективність, у залежності від окремих біологічних умов (наприклад, залучені специфічні патогени).

Наступний клас варіантів здійснення - це будь-яка з вищеописаних композицій, де більш ніж 50% наночастинок срібла мають максимальний розмір менше, ніж 0,015 мікрометрів.

Наступний клас варіантів здійснення - це будь-яка з вищеописаних композицій, де більш ніж 75% наночастинок срібла мають максимальний розмір менше, ніж 0,015 мікрометрів.

Наступний клас варіантів здійснення - це будь-яка з вищеописаних композицій, де більш ніж 90% наночастинок срібла мають максимальний розмір менше, ніж 0,02 мікрометрів.

Наступний клас варіантів здійснення - це будь-яка з вищеописаних композицій, де більш ніж 75% наночастинок срібла мають мінімальний розмір більше, ніж 0,005 мікрометрів.

Наступний клас варіантів здійснення - це будь-яка з вищеописаних композицій, де більш ніж 90% наночастинок срібла мають мінімальний розмір більше, ніж 0,005 мікрометрів і менше, ніж 0,040 мікрометрів.

Наступний клас варіантів здійснення - це будь-яка з вищеописаних композицій, де наночастинок срібла включають срібло з валентністю нуль, тобто в металевому окисненому стані ($\text{Ag}(\text{O})$) у їхньому ядрі або центральній частині, і, щонайменше, одне покриття срібла в іонному окислюванні, вибране з групи, що включає $\text{Ag}(\text{I})$, $\text{Ag}(\text{II})$, і $\text{Ag}(\text{III})$, з покриттям з Ag , Ag_2O , і/або Ag_4O_4 , які, швидше за все, присутні на, щонайменше, частині (або, по суті, на усьому) металевому срібному ядрі.

Наступний клас варіантів здійснення - це будь-яка з вищеописаних композицій, де частинки срібла включають срібло з валентністю нуль, тобто в металевому окисненому стані ($\text{Ag}(\text{O})$) і покриття з оксиду срібла зі стехіометрією Ag або Ag_2O або іншою відомою стехіометрією, що є стабільною в умовах процесу, що використовуються для одержання Ag_2O нових композицій срібло/вода відповідно до винаходу.

Подальше експериментальне дослідження показує, що спочатку срібні оксидні покриття, що спостерігаються на, щонайменше, частині частинок даного винаходу, є, щонайменше, частково у формі, наприклад, Ag_4O_4 , тобто, оксиду срібла II. У молекулі цього матеріалу два з атомів срібла може бути в 1^+ стані (срібло I), у той час як інші дві молекули срібла можуть бути в 3^+ стані (срібло III). Крім того, за певних умов срібло може бути присутнім у 2^+ (срібло II) стані, утворюючи, щонайменше, часткові покриття, наприклад, Ag_2O . Ці покриття спочатку визначаються виробничими умовами винаходу (наприклад, такими умовами, створени-

ми при і навколо поверхні розділу електрод/вода) і можуть бути дуже важливими для загальної ефективності композицій срібло/вода за даним винаходом. Точну композицію покриття на сьогоднішній момент важко визначити, але експериментальна деталізація забезпечувалася в розділі характеристики нижче в даному описі.

Наступний клас варіантів здійснення - це комбінація будь-яких описаних вище варіантів здійснення срібло/вода з перекисом водню при 1-3 ваг. % перекису водню в кінцевому продукті.

Наступний клас варіантів здійснення - це комбінація будь-яких описаних вище срібло/вода варіантів здійснення з динатрій EDTA, при 0,5-10 ppm у кінцевому продукті.

Наступний клас варіантів здійснення - це комбінація будь-яких описаних вище варіантів здійснення срібло/вода, де близько 50-75% по об'єму заміщено 10% йод-повідомом, що займає близько 25-50% суміші срібло/вода в кінцевому продукті.

Наступний клас варіантів здійснення - це комбінація будь-яких описаних вище варіантів здійснення срібло/вода з різними комерційно доступними антибіотиками (або в рідкій формі, або у формі порошку) для одержання синергетичних ефективних комбінованих терапій.

Наступний клас варіантів здійснення - це способи застосування всіх описаних вище композицій проти людських і тваринних патогенів, як: (1) внутрішніх, (2) зовнішніх або (3) як внутрішніх, так і зовнішніх.

Наступний клас варіантів здійснення включає застосування AgEDTA для здоров'я або самопочуття людини і/або тварин.

Наступний клас варіантів здійснення включає застосування інших агентів срібла, таких як, наприклад, EDDS срібла, куркумінат срібла, берберин срібла і тетрациклін срібла.

Наступний клас варіантів здійснення включає застосування інших металів, таких як цинк, мідь, сплави міді, титан, платина і їхні сплави або суміші, взаємозамінні зі сріблом як для готування, так і для проведення способів введення, розкритих в описі. Для стислості, в описі переважно посилалися на срібло, проте, необхідно розуміти, що інші метали, розкриті в описі, можуть бути рівною мірою сприятливими.

В іншому переважному варіанті здійснення винаходу, додаткові, основані на сріблі неорганічні продукти, можуть бути, щонайменше, частково, або в деяких випадках, по суті, цілком заміщеними для композицій срібло/вода відповідно до даного винаходу. Специфічно, срібло (наприклад, іони срібла, Ag^+ , метал срібла) може бути контрольовано прикріпленням або фіксуванням, наприклад, між шарами глини і/або в решітках у цеолітах. Таке фіксування може виникати при контролюванні заряду, наприклад, силікатного шару, заряду цеолітної решітки, також як і відстані між шарами або розміром цеолітної решітки. У цьому відношенні, срібло може прикріплюватися або зв'язуватися міцно або відносно вільно, у залежності частково від стану здоров'я і самопочуття, і точки взаємодії між сріблом і біологічним матеріалом (наприклад, на поверхні біологічного матеріалу, або у внутрішній частині, або комбінації внутрішніх частин і т.д.).

Відповідно, отримані продукти можуть включати продукти, що досить плинні, і є, тому, питними або тими, що піддаються розбризкуванню; також як і продукти, що є гелеподібними або пастоподібними і легко намазуються на поверхні, як гелі або пасти. Будь-який з металів, що тут описується, може триматися усередині кристалічного або аморфного клатрату одного або декількох атомних шарів кисню або кисневмісних молекул. Показано, що певні структури метал/клатрат мають несподівану ефективність. Крім того, у доповненні до срібла, включеному всередину або на структуру оксидного шару (наприклад, глини) і сітку (наприклад, цеоліти) можуть бути використані силікати, фосфати й оксиди, такі як гідроталцити. Крім того, бажані сімейства глини або слюди, які можна використовувати в даному винаході, (і які здатні мати різні поверхневі заряди і/або різні відстані між шарами) включають, наприклад, іліти, монтморілоніти, хлорити і вермикуліти.

Глини і слюди, так як і цеоліти, дуже необхідні як носії іона металу(ів) для різних цілей, включаючи існуючі в природі або ті, що легко одержуються, частинки можуть підтримуватися в необхідному діапазоні колоїдного розміру, що покривають їх, наприклад, суспендуючись в рідині (наприклад, вода) і є типово біологічно дуже прийнятними (наприклад, невеликі побічні ефекти або їх відсутність). У цьому відношенні, коли срібло поміщають, наприклад, всередину або на глину, або цеоліт, молекули потім нагрівають до помірних температур (наприклад, 100-200°C) для фіксування срібла до або всередині клатрату. Усі ці матеріали можуть бути виготовленими у широкому діапазоні в'язкостей від плинного стану до дуже в'язкого.

Крім того, срібло-метал або срібло-іони, що вбудовані в силікагель шляхом дифузії і сушіння, є також бажаними механізмами для доставки іонів металу відповідно до даного винаходу.

В іншому переважному варіанті здійснення винаходу комбінації вищезгаданих частинок, органічні і/або неорганічні структури можуть бути використані для позитивного впливу на здоров'я і самопочуття людей і тварин. Специфічно, частки металу, відповідно до винаходу, можуть бути використані окремо, як описано вище. Крім того, частки металу можуть комбінуватися з, наприклад, органічними речовинами, що обговорювалися вище (наприклад, AgEDTA). Крім того, іони металу, відповідно до даного винаходу, можуть комбінуватися з будь-якими неорганічними речовинами (наприклад, глинами або цеолітами). Крім того, іони металу даного винаходу можуть комбінуватися як з органічними молекулами (наприклад, AgEDTA), так і з неорганічними молекулами (наприклад, глинами або цеолітами). Ця комбінація системи доставки металів срібла або іона срібла може бути сконструйована таким чином, щоб, наприклад, внутрішнє споживання будь-якої вищезгаданої системи доставки срібла може призводити до того, що вони доставляються до різних частин, наприклад, організму. Зокрема, наприклад, в організмах людей, певне срібло може абсорбуватися в роті, через кишку, також як і через товстий і/або тонкий кишечник і т.і. Крім того, у залежності від, наприклад, кількості глини(и) або цеоліту(ів) відносно

води (також як і різні желеутворюючі речовини, описані тут) отриманий продукт(и) може бути від дуже рідкого (низька в'язкість) до дуже в'язкого (висока в'язкість). У цьому відношенні, взагалі, чим більше глини або цеоліту забезпечується відносно води (також як і желеутворюючий агент), тим більше в'язким є кінцевий продукт.

Приклади

Складання композиції

Композиції срібло/вода можуть бути виготовлені відповідно до процедур, викладеними в патенті США № 6214299, об'єкт винаходу якого специфічно включений в опис за допомогою посилання.

Переважний спосіб одержання композиції, що включає срібло відповідно з даним винаходом, застосовує електроди, що містять електрохімічну комірку, і включає етапи, на яких:

(а) поміщають, щонайменше, два срібних електрода в контакт з кількістю високо очищеної води;

(б) подають електричний струм через срібні електроди для відділення, таким чином, частинок срібла від зазначеного срібного електрода в такому ступені, який достатній для викликання одержання суспендованих частинок срібла у воді; і

(с) перемішують воду протягом зазначеного одержання суспендованих частинок срібла для диспергування, таким чином, частинок срібла в більш уніфікованій концентрації з зазначеною водою так, щоб висока кількість і суттєво уніфікований розподіл суспендованих частинок срібла може бути зроблено на партію.

Інший переважний спосіб одержання композиція, що включає композиції срібло/вода, використовує електрохімічну комірку і включає етапи, на яких:

(а) утворюють електричний ланцюг, що складається з джерела струму, і першого провідника, електрично з'єднаного з зазначеним джерелом струму, і другого провідника, електрично з'єднаного з зазначеним джерелом струму, при цьому зазначений перший провідник розташований на відстані від зазначеного другого провідника, і де, щонайменше, один із провідників зроблений з елементарного срібла, або альтернативно, цинку, міді, мідних сплавів, титана, платини і їх сплавів або сумішей;

(б) замикають ланцюг шляхом розміщення першого провідника і другого провідника в сполучі з пневмоопором;

(с) керують джерелом струму так, щоб забезпечити перемінний струм одночасно першому провіднику і другому провіднику так, щоб напруга підвищувалася і знижувалася в першому і другому провіднику в перемінній послідовній сполучі для того, щоб викликати виділення частинок срібла (або іншого металу) з першого електрода і надходження в пневмоопір і розташування їх у суспензії з зазначеним пневмоопором; і

(д) селективно настроюють електроди шляхом перенесення їх у напрямку до пневмоопору для компенсації зниження довжини електрода, що викликана поступовим виділенням частинок срібла з них для запобігання дугового пробою між електродами і зазначеним пневмоопором і для підтримки бажаної щільності струму на кінці електродів.

Кожний водяний резервуар або бак, що виробляють композиції срібло/вода, мають енергозабезпечення, що складається з восьми трансформаторів (придатним трансформатором для застосування в даному винаході є Franceformer, Part No. 48765), розрахований на 120 VAC (напруга перемінного струму) на вході і на 10,500 VAC максимально на виході при 30 міліамперах. Кожен трансформатор був переважно оснащений 45-мікрофарадним конденсатором (такий як Aerovox, Part No. M24P3745MP2), зв'язаним паралельно напроти вхідного кінця трансформатора.

Комбінація трансформатора і конденсатора може виявитися сприятливою в деяких випадках і дуже бажаною в інших. Зокрема, трансформатор сприяє приходу напруги і гармонійних хвиль струму АС сили у фазі один з одним. Ступінь, у якій напруга і струми знаходяться у фазі один з одним, відома як фактор сили. Чим ближче фактор сили до 1,0, тим ближче фази вирівнюються між вольтами й амперами і тим більше сила подається на електроди (наприклад, сила типово визначається за допомогою множення вольтів на амperi).

Кожен бак фільтрують через прозоре покриття, зроблене з, наприклад, полімеру, що підходить, і сконструйованого таким чином, щоб вийшло вісім електродних наборів. Кожен електродний набір включає фіксований електрод, зроблений з, наприклад, срібної пластини товщиною 18 калібру, що стосується двох витрачуваних електродів, зроблених з, наприклад, 18 калібру срібного дроту (.9999 чистоти). Електроди переважно згинають навпіл на середині, а кінці перекручують між собою в подвійну спіраль для одержання бажаної комбінації напруги і щільності сили. Кожний електродний набір живить трансформатор.

Так як кожен бак фільтрують для виробництва, електроди настраюють так, щоб фіксовані електроди були в гарному контакті з водою (наприклад, щонайменше, 1/3-1/2 пластин були занурені), і електроди, що витрачаються, були над водяною поверхнею. Коли подається енергозабезпечення, вода піднімається і формує конічну структуру навколо кожного електрода, що витрачається. Ця конічна структура відома в літературі як "конус Тейлора". Спочатку вода є дуже чистою і тому володіє високим електричним опором. Відповідно, при використанні, наприклад, постійного струму 10,000 вольт трансформатора, прикладена напруга через електроди може бути спочатку дуже високою, наприклад, близько 6500-8500 вольт, і електроди, що витрачаються, можуть бути 5-10 мм над водяною поверхнею, тим самим досягається бажана напруга і бажана щільність струму на електродах, що витрачаються. Це призводить до відносно великого конуса Тейлора через низьку електропровідність води щодо високої електропровідності електрода (наприклад, утворене велике поле). Продукт наночастинок срібла, сформований як частинки срібла, переносить з електродів, що витрачаються, на границі розподілу повітря-вода-срібний електрод. Так вода поглинає все більше і більше частинок срібла, електричний опір суміші вода/срібло зменшується. При постійному струмі або струмі обмеженого порядку прикладена напруга буде потім убавати або знижуватися як функція

часу (див, наприклад, Фігуру 31). Відповідно, електроди, що витрачаються, розташовують типово нижче для більш близького контакту з поверхнею води, наприклад, можливо тільки 1-2 мм вище поверхні. Простіше кажучи, конуси Тейлора будуть потім набагато менше через меншу різницю в електропровідності між електродами і водою (наприклад, є присутнім менше поле). Загалом, електроди, що витрачаються, і/або рівень води повинні бути побудовані в такий спосіб відповідно протягом усього виробничого процесу для підтримки початкової геометрії. Незважаючи на те, що конуси Тейлора стають менше протягом цього процесу (таким чином, представляючи, наприклад, частки металу, що виходять у розчин), малі конуси Тейлора будуть усе-таки бути присутнім наприкінці процесу. Воду в кожному баці перемащують з повітрям протягом усього процесу для підтримки гомогенності.

Коли досягають бажану або цільову концентрацію ppm срібла в розчині срібло/вода, продукт може бути потім продавлений, якщо бажано або необхідно, через фільтр 1 мікрон в один з декількох дуже великих, наприклад, місткістю 2,300-6,500 галонів, тимчасових баків, і аналізується перед бутілюванням і транспортуванням. Аналіз проводять шляхом процесу розщеплення з застосуванням тепла й азотної кислоти, і аналіз проводять із застосуванням Perkin-Elmer Analyst 300 Атомного Абсорбційного Спектрофотометра. Отримана композиція срібло/вода потім може бути комбінована з іншими інгредієнтами для утворення гідрогелю, листового матеріалу, або може бути бутілюваною сама по собі, або може бути комбінованою (наприклад, або як рідина, або висушена і додана як порошок) з іншими допоміжними речовинами, як описано в даному описі.

Посилаючись на Фігуру 31, що показує дійсне убавання напруги в часі і дані концентрації срібла як функція часу, відповідно до процесу формування заявлених композицій срібло/вода. Дійсно з плином процесу напруга падає, а концентрація срібла росте. Також відзначалося відповідне зниження розміру конусів Тейлора на кожному електроді, що витрачається. Дані концентрації срібла на цьому графіку не повинні братися як кількісні, тільки як репрезентативні, через варіант добору вибірових зразків і змішування (наприклад, суміш срібло/вода може бути не цілком гомогенною в кожному з моментів вибіркового добору зразків).

Посилаючись на Фігуру 32, що показує два графіки концентрацій срібла для кожного періоду, також як і деякі точки на графіку додаткової концентрації. Сіра лінія з квадратом позначає поточну концентрацію срібла (як визначено за допомогою атомної абсорбційної спектроскопії), заснована на зразку 60 мл, отриманій розкапуванням з піпетки з приблизно середньої глибини бака і біля половини відстані між центром і стінкою бака. Чорна лінія з зірочками позначає поточну концентрацію срібла як грубо округлений за допомогою попередньо відкаліброваного приладу, що вимірює електричний опір вищезгаданої аліквоти 60 мл рідини. У термінах опорів даних метода вода спочатку (а саме, час=нуль) мала електричний опір близько 175 кілоом/сантиметр. На відміну від цього, на

відмітці 31-годинного періоду суміш вода/срібло мала опір близько 62,7 кілоом/сантиметр.

Відразу нижче експериментальних точок концентрація/опір на відмітці 32-години окрема експериментальна точка представлена як "квадрат". Ця експериментальна точка визначає концентрацію срібла, визначену атомною абсорбційною спектроскопією після вимикання високої напруги, але що дозволяє діяти барботеру/мішалці протягом інших 20 годин для гомогенізації суміші.

Один висновок, який можна зробити з Фігури 32, це те, що срібло спочатку може не бути гомогенно розподіленим по баку, поки формується срібло, незважаючи на присутність барботера/мішалки, що діє протягом усього періоду процесу. Скоріше може бути визначений час запізнювання після завершення додавань срібла в чан до того, як барботер/мішалка може "надолужити втрачене", і гомогенно розподілити срібло у воді.

Фігура 33 - це інший графік поточної напруги і концентрації срібла як функція часу, протягом якого відбувається одержання срібло/вода. Цей графік більш того показує поточний "фактор сили" трансформатора живлення. Таким чином, фактор сили починається при приблизно 0,8, зростає до максимуму близько 0,97 приблизно 6 годин, і знижується до низького значення близько 0,6 через приблизно 30 годин. Крім того, дані напруга/час математично відповідали рівнянню $y = -2.1333\ln(x) + 8.7057$, де y відповідає напрузі і x відповідає часу, ppm срібла у воді представлено терміном "квадрати" і складає близько 1 ppm і досягає максимуму при приблизно (наприклад, через те, що вода не була цілком чистою після фільтрації) 11 ppm через близько 30 годин.

Фізична характеристика

Аналіз вмісту срібла в композиціях срібла відповідно до винаходу може бути проведений за допомогою (ацетилен) полум'яної атомної абсорбційної спектроскопії (FAAS), індуктивно сполученої плазми (ICP), атомної емісійної спектроскопії (AES) або іншої методики, відомої спеціалісту в даній області як чуттєвої до срібла у відповідному діапазоні концентрації. Якщо частки срібла композиції малі й уніфіковані в розмірі (наприклад, 0,01 мікрметрів або менше), прийнятний точний аналіз може бути отриманий за допомогою протікання колоїду безпосередньо через атомну абсорбцію або ICP/AES. Це через те, що готування зразка для атомної абсорбційної спектроскопії іонізує практично все срібло, роблячи можливим своєчасне визначення.

Якщо частки композицій є більш великими, ніж 0,2 мікрметрів, то переважно є процедура розщеплення. Процедура розщеплення не є, безумовно, ідеальною для композицій срібла, що можуть бути зроблені або зберігатися в контакт з галогенідами або іншими видами аніонів, що можуть реагувати з остаточно розділеним сріблом, або комбінуватися з білком або іншим желеутворюючим матеріалом. Варіант здійснення процедури розщеплення показаний нижче:

1. Беруть 10 мл аліквоти повністю перемішаної перемішаної або збовтаної композиції срібла, яку треба проаналізувати, і поміщають її в чисту полікарбонатну пляшку або іншу ємність із придатного

матеріалу (в основному, пляшка) із щільно пригнутою кришкою. Розмір 30-100 мл є переважним.

2. мікропіпеткою або дозатором, додають 0,1 мл азотної кислоти, реагент розташовується на композиції срібла в пляшці.

3. Щільно прикривши пробку, нагрівають композицію срібла до, щонайменше, близько 80°C, і переважно близько 90°C-100°C з невеликим збовтуванням протягом часу, який достатній для розчинення срібла - розчинення відбувається практично миттєво.

4. Дозволяють отриманій суміші охолонути при кімнатній температурі, поки кришка залишається на місці. Ретельно трясуть пляшку. Ця процедура розщеплення також розчиняє будь-який оксид срібла поверхневого шару, що може бути присутнім на частках срібла.

5. Використовують атомну абсорбційну спектроскопію, ICP/AES, або еквівалентну засобу для аналізу вмісту срібла в суміші срібла. Переважно, будуть використані свіжоприготовлений стандарт або стандарти, переважно приготовлених відповідно до інструкцій виробника устаткування, із прийнятним розведенням при необхідності.

6. При викладі результатів необхідно прийняти до уваги, що всі розведення протягом готування, включаючи 1% розведення, викликалося додаванням азотної кислоти.

Концентрація срібла композицій срібло/вода даного винаходу, що відповідає даним на Фігурах 31, 32, 33 і т.д., визначалася з використанням Perkin Elmer AAnalyst 300 атомного абсорбційного (AA) спектрометра. Зразки заявлених композицій срібло/вода були розщеплені відповідно до процедури, описаної вище.

Принципова установка

Система Perkin Elmer AAnalyst 300 складається з високо ефективної системи пальника з розпилювачем Universal GemTip і атомним абсорбційним спектрометром. Система пальника забезпечує термічну енергію, необхідну для дисоціації хімічних речовин, забезпечуючи вільні атоми, що аналізуються, для того, щоб відбулася атомна абсорбція. Спектрометр вимірює кількість легко абсорбованих при специфічній довжині хвилі з застосуванням порожньої катодної лампи як первинного джерела світла, монохроматора і детектора. Дугова лампа дейтерію коректує зворотну абсорбцію, що викликана неатомними видами в атомній хмарі.

Аналіз фізичної/хімічної форми композицій срібла і срібло/вода

А. Ведення

Зразок композиції, що номінально містить 22 ppm срібла у воді, був проаналізований за допомогою час-пролітної мас-спектрокопії вторинних іонів (TOF-SIMS) для визначення форми срібла в композиції. Висновком виявилось те, що основна частина срібла існує як срібло (0) (тобто, металеве срібло) і існує поверхневе покриття, що існує на середній композиції у вигляді, наприклад, оксиду срібла (II) (Ag). Як згадувалося вище оксид срібла (II) є звичайно стехіометричною комбінацією срібла (I) і срібла (III).

В. Проведення експерименту

Декілька крапель 22 ppm заявленої композиції срібла випарювали до висушування на силіконовому субстраті при кімнатній температурі. Осад аналізували за допомогою TOF-SIMS (час-пролітна мас-спектроскопія вторинних іонів), і позначали його як зразок. Стандартний матеріал оксиду срібла (II) (Ag) був проаналізований поміщенням декількох частинок стандартного порошку, отриманого від виробника, на силіконовий субстрат, і позначався як стандарт.

Час-пролітна мас-спектроскопія вторинних іонів (TOF-SIMS) заснована на принципі бомбардування твердого зразка пульсуючим, остаточно сфокусованим променем первинних іонів, і потім аналізуванням вторинних іонів, отриманих з поверхні зразка шляхом час-пролітної мас-спектроскопії. Ця аналітична методика є поверхово чуттєвою, що одержує свою інформацію від шару, що віддалений на приблизно 20-40 Å (один Ангстрем = 1×10^{-4} мікрометрів) нижче поверхні. TOF-SIMS методика звичайно застосовується як каротажа для визначення композиції невідомих зразків. Кількісне визначення можливо, якщо в наявності є прийнятні мікроаналітичні стандарти для калібрування. Цей аналіз був проведений використанням стандартних умов мас-спектрометра з високою розрешуючою властивістю.

С. Результати

Негативна іонна маса була отримана для Ag(II)O стандартного матеріалу і зразка продукту, відповідно. Мас-спектральна ділянка для обох спектрів показувала присутність більш ніж одного виду оксиду срібла, що більш ймовірно є присутнім як, що найменше, часткове покриття на частках срібла. Ці дані свідчать про те, що срібло (II) - це середній окислений стан срібла, що знаходиться на поверхні частинок зразка. Сигнали оксиду срібла (наприклад, Ag) виявляють істотно більш високу інтенсивність відносно зразка, у порівнянні зі зразком продукту, що відбувається через те, імовірно, що металеве срібло домінує в зразку. Передбачали, що так як середній розмір частинки у зразку зменшується, рівновага срібла до оксиду срібла буде також зменшуватися, чим більше оксиду срібла буде знаходитись.

Аналіз розміру/морфології/композиції

Імовірно, незвичайна ефективність препаратів срібло/вода, описана в описі, обумовлена відношенням між поверхневими властивостями/внутрішніми властивостями (наприклад, оксид/метал) частинок і/або розподілу розміру наночастинок срібла і/або морфологією наночастинок срібла. Чим менше середній розмір частки, тим більше площа поверхні і більше внесок часткової хімії поверхні. Проте, якщо частки занадто малі, може мати місце втрата стабільності і/або інших взаємодій, що може мати негативну дію на продукт. Композиції срібло/вода даного винаходу є чудовими, тому що вони стабільні в істотно чистій воді без поверхнево-активних речовин і т.і. (наприклад, багато типів "колоїдного" срібла з рівня техніки мають потребу в білках для підтримки частинок срібла в суспензії). Також, композиції срібло/вода є, по суті, безбарвними, тоді як інші препарати колоїдного срібла (зокрема, з великими розмірами частинок) звичайно виявляють кольори.

Ці властивості визначаються умовами виробництва, як описано вище.

Цифровий аналіз композиції показав, що існує середній діаметр частинок 0,0106 мікрометрів з діапазоном від 0,005 мікрометрів до 0,0851 мікрометрів. Проте, аналіз розподілу розміру показує, що більш ніж 95% частинок мають розмір близько 0,005 мікрометрів - 0,015 мікрометрів у діаметрі.

Подальший аналіз частинок був проведений за допомогою SEM, EDS (EDAX) і TEM. Зокрема, композиції срібло/вода були висушені і поміщені на EM решітку і досліджують у SEM (а саме, Сканируючий Електронний Мікроскоп) і двома різними TEM (а саме, Трансмісійні Електронні Мікроскопи). Ці аналітичні засоби дозволяють визначити розподіл розміру частинок у діапазоні 10-30 нм. Проте, деяка оцінка розміру частинок була необхідна в деяких отриманих фотомікрографіях, тому що частки мали тенденцію збиратися в групи або утворювати агломерати при висушуванні. Розмір висушених агломератів був між 50-100 нм. Фігури 1-6 показують різні TEM фотомікрографії частинок срібла, висушених з композицій срібло/вода відповідно до даного винаходу. Фігури 7a-7d показують різні TEM фотомікрографії частинок срібла, отриманих відповідно до даного винаходу, при цьому ці фотомікрографії були отримані різною методикою. Зокрема, композиції срібло/вода даного винаходу були поміщені на С-плівку і проаналізовані за допомогою кріо-TEM (а саме, TEM, відмінний від того TEM, що застосовувався для одержання Фігур 1-6), при температурі біля -100°C . Композиція срібло/вода за даним винаходом була, таким чином, практично моментально заморожена. Кріо-TEM використовували при біля -100°C і при рівні сили приблизно 100 кВ, і отримані фотомікрографії показані у Фігурах 7a, 7b, і 7c. Ці Фігури 7a-7c точно показують, що середній розмір частинок є менше, ніж 20 нанометрів. Крім того, Фігура 7d показує TEM аналіз у модифікації "SAD". Загалом, ці TEM фотомікрографії (Фігури 7a-7c) показують, що максимальні розміри частинок не згрупованих частинок срібла складають 15 нанометрів або менше, і деякі більш маленькі частки в діапазоні 3,5-5 нанометрів. Дифракційний аналіз, що показаний на Фігурі 7d, визначає, що частинки являють собою переважно металеве срібло, багаторазово згруповані по двоє, і є практично чистими. Існує припущення на цих фотомікрографіях можливості напливання або покриття. Фігура 7e показує EDAX спектр (а саме, Energy Dispersion Spectrum або "EDS") частинок срібла, узятих з композиції срібло/вода відповідно до даного винаходу. Фігура 7e показує повну відсутність металевих забруднюючих домішок (наприклад, Au, Pt і т.д.) у сріблі. Мідь присутня у формі, що вимагає устаткування мікроскопа. Спостерігали значну кількість присутнього кисню, який може бути присутнім у міді, також як і може бути присутнім як покриття на, принаймні, частині частинок срібла.

Фігура 8 показує картину дифракції електронів, узятих з частинок срібла за даним винаходом. Ці дані говорять про присутність, що найменше, одного виду оксиду срібла. Ці дані є предметом деякої інтерпретації, так як Фігура 9 показує, наприклад, можливе ушкодження електронним променем, що

має місце на частках срібла протягом процесу збору даних. Це ушкодження електронним променем не є очевидним, коли проводять дослідження колоїдного срібла, отриманого іншими виробниками (що обговорюються нижче в описі). Таким чином, збір даних з використанням SEM і TEM методи є досить важким, тому що енергія електронних променів здатна ушкоджувати (і тим самим змінювати) будь-які поверхневі композиції, що цікавлять. Таким чином, для одержання й аналізу цих результатів була проявлена велика обережність.

Фігура 42 показує результати також іншого способу зняття характеристик. У даному випадку, методики порошкової рентгенівської дифракції були використані в спробі подальшої демонстрації наявності оксидних фаз. Зокрема, Фігура 42 показує чотири зразки рентгенівської дифракції, узяті з чотирьох різних локалізацій на висушеній композиції 200 ppm срібло/вода, що виконана відповідно до даного винаходу. Крім того, накладені на чотири зразки рентгенівської дифракції являють собою чотири зразки контрольної дифракції видів, відмінних від чистого металевого срібла. Зокрема, композиція 32 ppm срібло/вода, що виконана відповідно до даного винаходу, була концентрована до близько 200 ppm відповідно до стандарту зворотньоосмотичного способу фільтрації з водою. Зокрема, заявлена композиція срібло/вода була пропущена через зворотньоосмотичну систему фільтрації, при цьому "відпрацьована" вода з зворотньоосмотичної системи фільтрації містить значно більше концентрованих компонентів срібла. Один раз одержали 200 ppm розчин, цей розчин висушили в середовищі рідкого азоту таким чином, щоб одержати порошок, що може бути підданий рентгенівської дифракції. Зокрема, суміш срібло/вода помістили в ємність, ємність накрили пласстиковою плівкою, після чого ввели азот в один кінець зборки ємність/пластикової плівка; і азот випустили з протилежного кінця зборки ємність/пластикової плівка. Температура в установці не перевищує приблизно 75-80°C для підтримки цілісності всіх компонентів у суміші срібло/вода. Достатня кількість висушеного порошку (а саме, виготовленого з 200 ppm розчину) було потім доступно для аналізу рентгенівської дифракції.

Отримані зразки рентгенівської дифракції чітко показують наявність, щонайменше, чотирьох окремих видів. У цьому відношенні, мабуть, що безліч піків карбонату срібла спостерігалися при ступені приблизно 18-22. Ці піки були найбільш ймовірними під час процедури. У цьому відношенні, CO₂ найбільше ймовірно був присутній у повітрі навіть тоді, коли здійснювалися спроби утворення середовища азоту над 200 ppm розчином при процедурі сушіння. Крім того, ряд піків спостерігався при ступені приблизно 33. Проте, кожний з цих піків може бути віднесений до оксиду срібла (Ag), карбонату срібла (Ag₂CO₃), і/або оксиду одновалентного срібла (Ag₂O). Таким чином, який вид представлений, не цілком зрозуміло. Крім того, сильний пік металу срібла спостерігався при ступені приблизно 38. Цей сильний пік можна спостерігати в кожному зразку рентгенівської дифракції. Відзначено, проте, що малий пік оксиду одновалентного

срібла (Ag₂O) також спостерігався при ступені приблизно 38. Крім того, сильний пік оксиду срібла (Ag) спостерігався при ступені близько 37, у комбінації з відносно сильним піком карбонату срібла (Ag₂CO₃). Також відзначено, що пік оксиду срібла (Ag) відповідав одній з тетрагональних фаз оксиду срібла. Стає зрозумілим з розгляду отриманих даних рентгенівської дифракції і порівняння їх з файлами існуючої бази даних, що одна або більш оксидних фаз срібла присутня в заявленій композиції срібло/вода відповідно до даного винаходу. Можливим є те, що комбінація оксидів присутня завдяки новим методикам обробки відповідно до даного винаходу. Відзначено, що ніякі зразки рентгенівської дифракції не були доступні для порівняння з Ag₄O₄ на відміну від зразків рентгенівської дифракції відповідно до даного винаходу.

Проте, Ag₄O₄ існує комерційно. У цьому відношенні, зразок Ag₄O₄ був комерційно отриманий і TGA і DTA аналізу такого порошку представлений. Зокрема, Фігура 43 відноситься до TGA аналізу і DTA аналізу, відповідно. Стає зрозуміло завдяки кривій DTA на Фігурі 43, що ендотерм для Ag₄O₄ існує близько 181°C. Даний ендотерм також відноситься до втрат маси, показаних на кривій TGA на Фігурі 43. Ці експериментальні виміри відносяться до Ag₄O₄, що розкладається до Ag₂O. Другий дуже сильний ендотерм показаний близько 403°C, також як і друга відповідна утрата ваги. Дані дві експериментальні точки відповідають Ag₂O, що розкладається до металу Ag.

Фігура 10 показує SEM фотомікрографію нового срібного електрода перед використанням у процесі відповідно до даного винаходу. EDS елементарний аналіз був проведений на частинах електрода, позначених як 1, 2 і 3. Ці три окремі аналізи показані на Фігурах 11, 12 і 13, відповідно. Ці аналізи показали присутність суттєво чистого срібла.

Фігура 14 показує SEM фотомікрографію закінчення срібного електрода, що використовувався, після того, як він використовувався в процесі відповідно до даного винаходу. EDS елементарний аналіз був проведений на частинах електрода, позначених як 1 і 2. Ці два окремі аналізи показані на Фігурах 15 і 16, відповідно. Фігура 17 показує SEM фотомікрографію закінчення електрода, що використовувався, в більшому збільшенні (приблизно 3500X). Частини 4 і 5 були також досліджені за допомогою EDS елементарного аналізу, і також знайшли, по суті, чисте срібло.

Порівняння частинок срібла з комерційно доступних типів колоїдного срібла

Для того, що зрозуміти відмінності в прояві (наприклад, біологічної ефективності) композиції срібло/вода відповідно до даного винаходу, при порівнянні з відомими типами колоїдного срібла, досліджували відмінності у фізичних властивостях. Фігури 18a і 18b - це TEM фотомікрографії частинок срібла, що відповідають частинкам срібла в першому типі колоїдного срібла, що отримане з General Nutrition Center Головного Центра Харчування (General Nutrition Center) у 2004 і відомого в широкому продажі як GNC Дієтична Додаток Рідкого Колоїдного Срібла (25 ppm) ("GNC"). Фігури 19a і 19b - це TEM фотомікрографії частинок сріб-

ла, що відповідають другому типу колоїдного срібла, відомому в широкому продажі як "Silverado". Фігури 20a і 20b - це TEM фотомікрографії частинок срібла, що відповідають третій групі колоїдного срібла, відомого в широкому продажі як Вітамінні, отримані з Біоорганічного Світу Удосконалені Колоїдні Мінерали (3 ppm) (Bioorganic). Фігура 21 - це порівняння, що перекривається TEM фотомікрографій частинок срібла від двох заявлених композицій срібло/вода (позначених як "ASAP 20" і "ASAP 10") і від трьох відомих у широкому продажі типів колоїдного срібла, відомих як "GNC", "Silverado" і "Bioorganic", описаних вище. Чіткі відмінності в розмірах частинок і формах отримані з цих фотомікрографій, таким чином, існують фізичні, структурні і потенційно хімічні відмінності між різними типами колоїдного срібла, що можуть допомогти у деякій мірі пояснити відмінності в біологічній ефективності між різними продуктами взагалі подібних хімічно.

Характеристика спектроскопії РАМАНІВСЬКА СПЕКТРОСКОПІЯ

Наступний аналіз сумішей срібло/вода виконували за допомогою рамановської спектроскопії. Виконали ряд аналітичних повторювань на трьох різних спектрометрах рамановського розсіювання. Причиною для застосування рамановської і резонансної рамановської спектроскопії була думка про те, що різні режими (і/або амплітуди) вібрації відзначаються у різних типах колоїдного срібла в порівнянні з композиціями срібло/вода за даним винаходом, а також у порівнянні з "чистою" або деіонізованою водою. Крім того, ці різні режими вібрації, що спостерігаються, у молекулах води можуть допомогти краще визначити колоїдні системи і пояснити біологічну ефективність різних продуктів, що розрізняються, на основі срібла.

У першій серії вимірів рамановської спектроскопії застосовували конфокальний рамановський мікроскоп від Vitex (Ульм, Німеччина). Номер моделі - CRM200. Спектр отримали за допомогою імерсійної лінзи Nikon 60 x (NA=1) із тривалістю інтегрування на спектр 15 секунд (наприклад, три окремих 5 секундних експозицій). CCD центрували при хвильових числах приблизно 1,799. Краплю розчину помістили в невелику лунку на чашці Петрі й опустили на неї імерсійну лінзу. Джерелом лазера для рамановської спектроскопії була хвиля довжиною 532 нм із близько 10 мв. Конфокальну систему визначення застосовували з конфокальним значенням, що складає близько 0,3x0,3x0,75 мкм (приблизно 7x10 E-8 піколітрів).

Фігури 22a і 22b представляють графічні результати даних, отриманих від 7 зразків. Два зразків були однаковими, навіть при тому, що позначено по-різному (10PR і 10PSU) і відповідали раніше згаданому "ASAP 10" (наприклад, 10 ppm срібла композиції, що заявляється, срібло/вода). "HPLC" відповідає високочистій воді (ультрачистий ступінь HPLC), отриманої від Alfa Aesar. "DI" відповідає деіонізованій воді. "GNC" відповідає GNC рідкій біологічно активній добавці колоїдного срібла (25 ppm). "AGX-32" відповідає 32 ppm композиції, що заявляється, срібло/вода. "VW" Означає вітамінні високоу ефективні біоорганічні колоїдні мінерали (3 ppm) (раніше названа як біоорганіка).

Показано чіткі розходження між різними зразками. Наприклад, первинний режим розтягування (наприклад, хвильові числа близько 3400-3500 1/см) у цих окремих розчинах вода/на водній основі показує значні відмінності. Крім того, коливаються обертальні рухи нижче 500 1/см також показують чіткі розходження між зразками. Деякі розходження можуть також бути помітними в режимах згинання близько 1600 1/см. Не вдаючись ні в яку докладну теорію або пояснення, здається, що різні поведінки композицій срібло/вода за даним винаходом можуть, наприклад, впливати або, щонайменше, допомагати пояснити, ефективність таких композицій щодо інших досліджуваних зразків.

Секундна серія даних рамановської спектроскопії отримана від окремої спектрографічної системи. Оскільки числа, що отримані від двох серій даних, різні (що переконливо підказує, що дані рамановської спектроскопії для води є функцією аналітичного пристрою, що застосовується), дані в цій серії даних також показують значні розходження між композиціями срібло/вода за даним винаходом в порівнянні з іншими типами колоїдного срібла або іншими типами води. У цій серії вимірів рамановської спектроскопії застосовували рамановський мікроскоп, що відбиває. Спектр одержали за допомогою лінзи Olympus 20 x (NA=0,4). CCD детектор центрували при чотирьох різних хвильових числах, а саме, 1600, 2500, 3400 і 4400 1/см. Лазерним джерелом для рамановської спектроскопії була хвиля довжиною 514,5 нм із близько 11,5 мв. Додаткову інформацію щодо спектра можна знайти на кожній з Фігур 23a, 23b і 23c. Мічення зразків на цих Фігурах відповідає тексту вище. Обидві серії даних рамановської спектроскопії переконливо підказують, що окремий молекулярний рух існує в цих різних зразках, що можуть вносити свій внесок у (або, щонайменше, свідчити про) біологічну ефективність композицій срібло/вода за даним винаходом.

Третю серію рамановських даних одержали за допомогою третього складного лазера випромінюючого конфокального рамановського мікроспектрографа Renishaw. Цю систему зібрали, щоб провести виміри, як над зразком, так і при зануренні в нього. Установку розробили для дослідження значення зразка, більшого в 100 разів - 1000 разів, ніж описаний у першій серії вимірів. Мікроспектрограф, що відбиває, з мікроскопом Leica DL DM оснастили або водно-імерсійними 20 x (NA=0,5), або сухими лінзами 5 x (NA=.12). Задній отвір кожної лінзи був розміром рівним або перевищуючим розширений діаметр лазерного променя. Застосовували дві лазерних частоти багатолінійного пристрою 50 мв аргонного лазера при 1/2 потужності для 514,5 нм і 20 мв HeNe лазера при 633 нм. Решітки з високим розрешенням вставили в оптичну доріжку монохроматора, що дозволило провести безупинний аналіз від 50 до 4000 хвильових чисел (1/см). Застосовували тривалість інтегрування від 10 до 20 секунд. Рідину зразку помістили в 50 мл склянку під лінзою. Обидва лазери використовували для дослідження резонансних смуг, у той час як раніше згаданий лазер, насамперед, використовували для одержання рамановського спектра. Розмір зразка складав близько 25 мл. Вимірюван-

ня із сухою лінзою 5 х виконали з об'єктивним позиціонуванням близько 5 мм вище рідини, щоб детально досліджувати обсяг близько 7 мм нижче водяного меніска. Імерсійні вимірювання виконували з 20 х імерсійною лінзою, зануреною на близько 4 мм у зразок, що дозволяє дослідження того ж самого обсягу простору. Області спостереження CCD детектора були індивідуально відрегульовані для кожної лінзи, щоб максимізувати інтенсивність сигналу і співвідношення сигнал/шум. Типовий спектр композиції срібло/вода за даним винаходом показаний на Фігурі 24a. Фігура 24b показує рамановський спектр трьох різних розчинів метал/вода, виготовлених за даним винаходом. Графік 1 відповідає 13 ppm розчину срібло/вода; Графік 2 відповідає 10 ppm розчину цинк/вода; а Графік 3 відповідає 11 ppm розчину мідь/вода.

Оскільки, числа, отримані від трьох серій даних, якимось чином відрізняються (що переконливо підказує, що дані рамановської спектроскопії для води є функцією аналітичного пристрою, що застосовується), дані в цих серіях даних показують помітні розходження між композиціями срібло/вода за даним винаходом в порівнянні з іншими типами колоїдного або срібла іншими типами води. Усі серії даних рамановської спектроскопії переконливо припускають, що окремий молекулярний рух і зв'язки присутні в цих окремих зразках, що можуть вносити свій внесок у (або, щонайменше, свідчити про) ефективність композицій срібло/вода за даним винаходом. Крім того, розходження в рамановських зразках для трьох різних розчинів метал/вода, показані на Фігурі 24b, також представлена можлива ефективність, що розрізняється.

UV-Vis Спектроскопія

Наступний аналіз сумішей срібло/вода виконували за допомогою UV-Vis спектроскопії. UV-Vis спектроскопія використовується на ряді з рамановською спектроскопією для вивчення додаткових режимів, що розрізняються, і/або амплітуд вібрації в різних частинах спектра. Для збору даних використовували окремий UV-Vis спектрометр. У цьому відношенні, спектр поглинання енергії одержали за допомогою UV-Vis мікроспектрофотометрії. Цю інформацію одержали за допомогою двопробових монохрометрових систем, що аналізують, здатних аналізувати довговильовий діапазон від приблизно 190 нм до приблизно 100 нм. UV-Vis спектрометром, що застосовується для збору спектра поглинання, був Jasco MSV350. Апарат установили для виміру рідких зразків з низькою концентрацією за допомогою кювети з плавного кварцу 10 мм х 10 мм. Дані одержали по вищезгаданому діапазону довжини хвилі за допомогою і фото електронного помножувача (PMT), і фото діодного детектора з наступними робочими параметрами: збір смуги пропущення 2 нм, роз рішення 0,5 нм; і водяний фон основи віднімали зі зробленого спектра. У цьому відношенні, UV-Vis характеристика для чистої води була віднята зі зробленого спектра, щоб показати більш показові спектральні характеристики суміші срібло/вода.

И вольфрамовий "галоген", і водневий "D2" джерела енергії застосовували як первинні джерела енергії для MSV350. Оптичний шлях спектрометра установили так, щоб дозволити потоку енергії проходити крізь зразки з фокусом, спрямованим до центра кювет зі зразком. Готування зразка обмежувалося заповненням і накриванням кювет і встановленням їх на тримачі кювет у цілком закритій камері для зразків. Дані одержали і виразили як одиниці спектральної поглинаючої здатності (за законом Беєра-Ламберта) стосовно довжини хвилі і частоти. Первинне розходження між зразками, що відповідають двом спектрам, показаним на кожній з Фігур 48a і 48b, було в концентрації срібла в кожній зі зразків. Особливо, більш високий графік амплітуди на кожній з Фігур 48a і 48b відповідає 32 ppm розчину срібло/вода; а більш низький графік амплітуди відповідає 10 ppm розчину срібло/вода. Довжина хвилі або положення частоти піків (наприклад, розташування піків і западин) досить подібні.

Як обговорювалося вище, срібло (наприклад, іони срібла, металеве срібло, Ag⁺ і т.і.) можна контролювано приєднати або зафіксувати, наприклад, між і/або на шарах глини і/або в клітинах цеолітів. Спосіб розміщення, наприклад, іонів срібла на глинах або у глинах, сляді або цеолітах, повинен забезпечити види іонів срібла в стані розчину і ввести зазначені види в композицію глини або цеоліта або в суміш. Обмін, наприклад, іона срібла на інший позитивно заряджений іон, іноді називають "BEC" або "CEC" (аббревіатурні назви, що означають ємність катіонного обміну "системи"). У цьому відношенні, більшість каолінітових матеріалів, як відомо, мають ємності катіонного обміну в діапазоні 2-5 (наприклад, 2-5 мг-екв./100 г). Монторилонітові глини, наприклад, мають ємності катіонного обміну близько 100 мг-екв./100 р. Оскільки, цеоліти можуть мати ємності катіонного обміну кілька сотень мг-екв./100 р. Наприклад, ємність катіонного обміну цеоліту, відомого як "Linde 4A цеоліт", складає 400-500 мг-екв./100 р. Загалом, чим вище значення BEC або CEC, тим більше здатність матеріалу вміщати катіони.

Провели експериментальні процедури для визначення здатності каолінітів або цеолітів служити системами збереження/доставки срібла (або іншого катіона(ів) металу). Зокрема, наступні етапи застосовували для готування і, отже, аналізу зразків срібло-глина, а також зразків срібло-цеоліт.

У загальних словах, типові каолінітові і цеолітові Linde 4A матеріали спочатку промили три рази деіонізованою водою для видалення можливої домішки хлору, що могла б приводити деякі стартові матеріали срібла (наприклад, іони срібла) до осадження (або небажано реагувати з ними), до того як стартові матеріали срібла могли б вишикуватися в/на каолінітові і/або цеолітові структури. Потім ці промиті матеріали змішали з розчином нітрату срібла (AgNO₃) у прийнятних концентраціях, що відповідають очікуваному або відомому "CEC" кожного представленого матеріалу. Потім отримані оброблені матеріали знову промили деіонізованою водою для видалення будь-якого невикористаного нітрату срібла. Зразки сушили протягом ночі в електричній сушильній печі з опором

близько 120°C. Зокрема, процедура промивання може бути наступною:

Біля двох грам кожного каолінітового або цеолітового зразка помістили в центрифужну пробірку. Потім додали деіонізовану воду. Суміш зразка і деіонізованої води потім збовтували на вібруючому шейкері близько 40 хвилин. Потім суміш центрифугували близько 30 хвилин при близько 1000 RPM. Потім надлишок рідини декантували з пробірки зі зразком. Етапи додавання деіонізованої води, збовтування, центрифугування і декантування повторили для всіх трьох промивань.

Один раз початкові 2 грами зразка промили для видалення можливої домішки хлору, ввели нітрат срібла в очищені каолінітовий і цеолітовий матеріали. Зокрема, близько 0,09 г нітрату срібла ввели в каолінітову суміш і близько 4,25 г AgNO_3 ввели в цеоліт Linde 4A. Зокрема, обмірювані кількості нітрату срібла додали в кожну пробірку, потім додали деіонізовану воду до наповнення пробірки, потім суміш збовтували на вібруючому шейкері близько 40 хвилин, і після цього центрифугували близько 30 хвилин при близько 1000 RPM. Потім рідину декантували. Цю процедуру додавання нітрату срібла, додавання деіонізованої води, збовтування на вібруючому шейкері, центрифугування і декантування повторили загальною складністю три рази. Після промивання і введення нітрату срібла методики закінчили, зразки вилучили з центрифужної пробірки і помістили в алюмінієвий (Al_2O_3) тигель і сушили протягом ночі при близько 120°C в електричному сушильному термостаті з опором. Отримані матеріали каолініт/срібло і цеоліт/срібло потім характеризували за допомогою SEM фотомікрографій і SEM EDS (EDAX) методик. Фігури 44a і 44b представляють SEM фотомікрографії каолінітових зразків, отриманих за методиками, описаним вище. З цих фотомікрографій чітко видно, що "подібні до книги" або "подібні до листа" структури каолінітів (наприклад, шари Si_2 і Al_2O_3 визначені як "X" і "Y" на Фігурі 44a) показують, що катіони срібла розташовані по "краях" матеріалів глини. Зрозуміло, що певний тип срібла приєднаний або заміщений, як свідчать більш чіткі "подібні до сторінки" ділянки цих фотомікрографій (примітка: ділянки "X" і "Y" представляють інші "подібні до книги" структури в зразку). Фігури 45a-45b показують EDS (EDAX) аналіз зразків, представлених на Фігурах 45a і 45b, відповідно. Ці аналізи чітко показують присутність алюмінію і кремнію, як очікувалося б для каолініту, а також деякої кількості титану (що свідчить про присутність рутилу). Можна також спостерігати дуже маленькі піки срібла, що відповідають BEC числам для каоліну, які є відносно низькими 2-5.

Фігура 46 представляє SEM фотомікрографію відповідних цеолітів, отриманих за методиками, описаними вище. Через більш високе число CEC цеоліту (а саме, близько 500) подібні до куба структури цеоліту на Фігурі 46, здаються "такими, що світяться" на фотомікрографії (див., наприклад, ділянку "A" на Фігурі 46). Це "світіння" наводить на думку, що відбувся суттєвий розподіл срібла в цеолітові структури і кризь них. У цьому відношенні, якби були яскраві плями металу срібла, що окремо світяться яскраво, то срібло не було б включене

в/на цеоліт. На Фігурі 47 представлений аналіз EDS (EDAX) зразка, показаного на Фігурі 46. Знову присутні відносно високі амплітудні піки алюмінію і кремнію, але також присутні надзвичайно високі піки срібла (наприклад, у порівнянні з піками Ag у каолініті, показаними на Фігурах 45a-45b). Ці дуже високі піки срібла відповідають значно більш високій здатності цеоліту захоплювати срібло у свою структуру (наприклад, високий BEC) у порівнянні зі структурою каолінітів (наприклад, низький BEC), що показано на Фігурах 44a і 44b.

Показання ефективності 22 ppm композиція срібла на *Bacillus subtilis*

A. Ціль Приклада

Ціль цього приклада полягає в демонстрації протимікробної активності композиції на основі срібла за даним винаходом на бактеріальних ендоспорах від організму, що аналізується, *Bacillus subtilis*. Ціль досягай, виконуючи стандартний досвід залежності загибелі організмів від часу за допомогою суспензії ендоспор *B. subtilis*. Звичайно, бактеріальні ендоспори стійкі до загибелі.

B. Матеріал і способи

Організм, що аналізується. Суспензію, що аналізується, яка містить ендоспори *Bacillus subtilis* (ATTC #19659), приготували з культури, вирощеної на живильному агарі, до якого додатково додали інгредієнти, що підсилюють споруляцію. Чашки наповнили стерильною водою, а ендоспори очистили повторними центрифугуванням і пересушуванням у воді. Остаточо промивали в 70% етанолі 30 хвилин для гарантії знищення усіх вегетуючих бактерій. Спори пересушували у воді, що містить 0,1% Tween 80 (торгова назва полісорбатної поверхнево-активної речовини) для запобігання агрегації.

Нейтралізатор. Суміш нейтралізаторів містила 12,7% Tween® 80 (торгова назва полісорбату), 6,0% Tamol® SN (торгова назва натрієвої солі нафтален-формальдегідного конденсату), 1,7% лецитин, 1% пептон і 0,1% цистин. Цей розчин піддали нейтралізації будь-якими хімікатами, що істотно не впливають на ріст бактерій.

Процедура залежності загибелі організмів від часу.

а) 9,9 мл аліквоти дезінфікуючої речовини (композиція срібла, що заявляється, 22 ppm, у воді) помістили в стерильну 20 мм x 150 мм пробірку. Пробірку урівноважили в 20°C водяній бані

б) 9,9 мл аліквоти дезінфікуючої речовини (композиція срібла, що заявляється 22 ppm, у воді) помістили в стерильну 20 мм x 150 мм пробірку. Пробірку урівноважили в 20°C водяній бані.

с) Через 30 хвилин, 1 годину і 4 години 1 мл суспензії організм/дезінфікуюча речовина перенесли в пробірку, що містить 9 мл нейтралізатора. Пробірку збовтали.

д) Через 2 хвилини нейтралізовану суспензію серійно розбавили 1:10 фізіологічним сольовим розчином (PSS).

е) Ряд життєздатних організмів у пробірках з обраним розведенням піддали мембранній фільтрації. 1 мл аліквот розмістили в чашки в двох повторювань. Мембрани промили близько 100 мл стерильного PSS і перенесли на чашки з живильним агаром. Чашки інкубували при 37°C 20 годин.

f) Підраховували число колоній на кожному фільтрі і розраховували логарифм зниження числа.

Контролі:

а) Титри суспензій, що аналізуються, розраховували, виконуючи дослідження мембранної фільтрації обраних 1:10 розведень аналізованих суспензій у PSS.

б) Нейтралізаторний контроль виконували інокуляцією суміші 9 мл нейтралізатора і 1 мл дезінфікуючого речовини з 100 мл розведення титру, що містить 100 КУО. Це зробило близько 10 КУО/мл у пробірці, що витримували протягом 20 хвилин до дослідження з мембранною фільтрацією за допомогою 1 мл зразків у двох повторностях.

С. Результати

Титр *Bacillus subtilis*;

Титр *Bacillus subtilis*

Число колоній	Розбавлення		
	1:1x10 ⁶	1:1x10 ⁷	1:1x10 ⁸
	TNTC	75	7
	TNTC	58	8

TNTC = занадто численні для підрахунку

Розведення *B. subtilis* суспензії спора/дезінфікуюча речовина

Час	L-1x10 ¹	1:1x10 ²	1:1x10 ³	1:1x10 ⁴	1:1x10 ⁵	1:1x10 ⁶
30 хв	-	-	TNTC	TNTC	57	10
	-	-	TNTC	TNTC	51	7
1 год	-	-	TNTC	TNTC	28	3
	-	-	TNTC	TNTC	55	3
2 год	-	TNTC	TNTC	126	23	-
	-	TNTC	TNTC	183	17	-
4 год	TNTC	TNTC	88	12	-	-
	TNTC	TNTC	69	12	-	-

TNTC = занадто численні для підрахунку

Контроль нейтралізації: 1:1x10⁸

D. Обговорення

Результати титру показали концентрацію життєздатних спор *S. subtilis* 6,65x10⁸ спор на мл в оригінальній суспензії. Інокуляція 9,9 мл дезінфікуючої речовини з 100 мл цієї суспензії дала початкову концентрацію 6,65x10⁵ спор на мл у досліджувальній пробірці.

Результати цих методик дозволили розрахувати значення логарифма зниження числа (LR) і відсоток вбитих (PK). Вони приведені в таблиці нижче. Значення розраховували за допомогою формули: $LR = -\log(S/S_0)$ і $PK = (1 - (S/S_0)) \times 100$; де S = концентрація організмів у певний час; а S₀ = початкова концентрація організмів під час 0.

Час	Log зниження числа	Процент вбитих організмів
30 хв	0,090	18,8
1 год	0,205	37,6
2 год	0,634	76,8
4 год	1,928	98,8

Дані контролю нейтралізації показали, що дезінфікуюча речовина задовільно нейтралізована. Фактичні підрахунки відповідають отриманим від розведення без помітної загибелі.

Препарат дезінфікуючої речовини, аналізованої в даному описі, показав гарну спороцидну активність проти спор *B. subtilis*. *B. subtilis* являє собою загальний вид, що застосовується у спороцидних аналізах, і належить того ж роду, що й організм, що викликає сибірську виразку. Через їхню генетичну подібність спор *B. subtilis* застосовували як непатогенний замінник для *Bacillus anthracis*, бактерії сибірської виразки. Отже, ре-

зультати відповідають сибірській виразці. Припускають, що більш тривала експозиція призвела б до додаткової загибелі.

Показання ефективності композиції 10 ppm срібла і 1,0% H₂O₂ та композиції 14 ppm срібла і 1,5% H₂O₂ проти *Bacillus subtilis*

A. Ціль прикладу

Ціль даного прикладу показати протимікробну активність двох композицій на основі срібла за даним винаходом на бактеріальні ендоспори від аналізованого організму *Bacillus subtilis*. Цього досягли виконанням стандартних досвідів залежності загибелі організмів від часу за допомогою суспензії ендоспор *B. subtilis*. У порівнянні з попереднім прикладом (із застосуванням 22 ppm срібла) цей приклад встановлює ефект, що забезпечує, перекису водню (H₂O₂) на протимікробні якості композицій срібла. Перекис водню стабільний у присутності композицій срібла за даним винаходом. Оскільки перекис водню сама володіє значними протимікробними якостями, вона часто руйнується каталазою або іншими мікробними ферментами. Однак, перекис водню здатна послабити стінки кліток бактерій і підсилити проникнення частинок срібла до того, як відбудеться яке-небудь руйнування перекису водню.

B. Матеріал і способи

1. Організм, що аналізується. Аналізовану суспензію, що містить ендоспори *Bacillus subtilis* (ATTC #19659), приготували з культури, вирощеної на живильному агарі, до якого додатково додали інгредієнти, що підсилюють споруляцію. Чашки наповнили стерильною водою, а ендоспори очистили повторними центрифугуванням і пересушуванням у воді. Остаточного промивали в 70% етанолі 30 хвилин для гарантії знищен-

ня усіх вегетуючих бактерій. Спори пересушували у воді, що містить 0,1% Tween 80 (торгова назва полісорбату) для запобігання агрегації.

2. Нейтралізатор. Нейтралізаторна суміш містила 12,7% Tween® 80 (торгова назва полісорбату), 6,0% Tamol® SN (торгова назва натрієвої солі нафтален-формальдегідного конденсату), 1,7% лецитину, 1% пептону і 0,1% цистину. Цей розчин піддали нейтралізації будь-якими хімікатами, що суттєво не впливають на ріст бактерій.

3. Процедура залежності загибелі організмів від часу:

а) 9,9 мл аліквоти кожної з дезинфікуючих речовин (композиції колоїдного срібла, що заявляються: одна містить 14 ppm срібла і 15% H₂O₂; інша містить 10 ppm срібла і 1,0% H₂O₂) помістили в стерильну 20 мм x 150 мм пробірку. Пробірку урівноважили в 200С водяній бані.

б) Кожну пробірку дезинфікуючої речовини інокулювали 100 мл суспензії аналізованих організмів під час 0.

с) Через 10 хвилин, 30 хвилин, 1 годину, 2 години, 4 години, 6 годин і 8 годин 1 мл суспензії організм/дезинфікуюча речовина видалили в пробірку, що містить 9 мл нейтралізатора. Пробірку збовтали.

д) Через 2 хвилини нейтралізовану суспензію серійно розбавили 1:10 фізіологічним сольовим розчином (PSS).

е) Ряд життєздатних організмів у пробірках з обраним розведенням піддали мембранній фільтрації. 1 мл аліквот розмістили в чашки в двох

повторюваннях. Мембрани промили близько 100 мл стерильного PSS і помістили на чашки з живильним агаром. Чашки інкубували при 37°C 20 годин.

ф) Підраховували число колоній на кожному фільтрі і розраховували логарифм зниження числа.

4. Контролі:

а) Титри суспензій, що аналізуються, розраховували, виконуючи дослідження мембранної фільтрації обраних 1:10 розведень аналізованих суспензій у PSS.

б) Нейтралізаторний контроль виконували інокуляцією суміші 9 мл нейтралізатора і 1 мл дезинфікуючої речовини з 100 мл 1:10³ розведення титру. Це зробило близько 2000 КУО/мл у пробірці, що витримували протягом 20 хвилин до розведення 1:10. Обидві пробірки аналізували мембранною фільтрацією за допомогою 1 мл зразків у двох повторюваннях. Усі результати представлені в таблицях 1а і 1б.

С. Результати

Титр спор *Bacillus subtilis*

Число колоній	Розбавлення		
	1:1x10 ⁶	1:1x10 ⁷	1:1x10 ⁸
	TNTC	36	5
	TNTC	27	4

TNTC = занадто численні для підрахунку.

Таблиця 1а

Розчин, що містить 14 ppm срібла і 1,5% H₂O₂
Розведення суспензії спора *B. subtilis* /дезинфікуюча речовина

Час	1:1x10 ¹	1:1x10 ²	1:1x10 ³	1:1x10 ⁴	1:1x10 ⁵
10 хв	-	-	TNTC	TNTC	227
	-	-	TNTC	TNTC	265
30 хв	-	-	TNTC	TNTC	258
	-	-	TNTC	TNTC	273
1 год	-	-	TNTC	TNTC	55
	-	-	TNTC	TNTC	33
2 год	-	TNTC	207	29	-
	-	TNTC	237	24	-
4 год	59	3	1		
	57	5	1		
6 год	0	0	0		
	3	0	0		
8 год	1	0	0		
	1	0	0		

TNTC = занадто численні для підрахунку.

Контроль нейтралізації

Нерозбавлений	1:1x10 ¹
TNTC	195
TNTC	210

TNTC = занадто численні для підрахунку.

Розчин, що містить 10 ppm срібла і 1,0% H₂O₂
Розведення суспензії спора *S. subtilis*/дезинфікуюча речовина

Час	1:1x10 ¹	1:1x10 ²	1:1x10 ³	1:1x10 ⁴	1:1x10 ⁵
10 хв	-	-	TNTC	TNTC	230
	-	-	TNTC	TNTC	287
30 хв	-	-	TNTC	TNTC	254
	-	-	TNTC	TNTC	260
1 год	-	-	TNTC	TNTC	146
	-	-	TNTC	TNTC	124
2 год	-	TNTC	TNTC	64	-
	-	TNTC	TNTC	71	-
4 год	TNTC	72	5		
	TNTC	77	5		
6 год	0	0	0		
	2	0	0		
8 год	0	0	0		
	0	0	0		

TNTC = занадто численні для підрахунку.

Контроль нейтралізації

Нерозбавлений	1:1x10 ¹
TNTC	200
TNTC	184

TNTC = занадто численні для підрахунку.

D. Обговорення

Дані показали концентрацію життєздатних спор *B. subtilis* 2,59x10⁸ спор на мл оригінальної суспензії. Інокуляція 9,9 мл дезинфікуючої речовини 100 мл цієї суспензії дала початкову концентрацію 2,59x10⁵ спор на мл у пробірці дослідження.

Результати цих методик дозволяють розраховувати значення логарифма зниження числа (LR)

і відсотка загибелі (PK). Вони приведені в наступній таблиці. Значення розраховували за допомогою формули: $LR = -\log(S/S_0)$ і $PK = (1 - (S/S_0)) \times 100$; де S = концентрація організмів у певний час; а S₀ = початкова концентрація організмів під час 0. Оскільки не відбувалася значна загибель через 30 хвилин, дані 10 хвилин приймали за значення S₀. Експозиція 6 годинна і 8 годинна не давала досить високі значення, щоб вважати їх надійними. Отже, ці дані не застосовували в лінійних регресіях. Лінійні регресії виконували за значеннями логарифма зниження числа за допомогою графіків, підібраних кривих за допомогою програмного забезпечення Minitab statistical. Отримані рівняння зниження числа і час, необхідний для ефекту шести логарифмів зниження числа, показані поряд зі значеннями логарифма зниження числа і відсотка загибелі в наступній Таблиці 2.

Таблиця 2

Час	14 ppm срібло + 1,5% H ₂ O ₂		10 ppm срібло + 1,0% H ₂ O ₂	
	Log зниження числа	Процент вбитих організмів	Log зниження числа	Процент вбитих організмів
30хв	-0,03	-7,9	0,003	0,6
1 год	0,66	78,0	0,28	47,8
2 год	2,05	99,1	1,58	97,4
4 год	4,63	99,998	3,54	99,97

Аналіз зниження числа

Рівняння для 14 ppm розрахованої лінії: $Y = -0,66704 + 1,32936x$. Рівняння для 10 ppm розрахованої лінії: $Y = -0,59690 + 1,03933x$. Ці рівняння показують, що час для 6 логарифмів зниження числа складає 5,02 годин для 14 ppm композиції і 6,35 годин для 10 ppm композиції.

Дані контролю нейтралізації показали, що дезинфікуюча речовина була задовільно нейтралізована. Очікувані цифри відповідають очікуваним цифрам від розведення.

Експериментальні розчини дезинфікуючої речовини виявили значну спороцидну активність

проти спор *B. subtilis*. Штами *B. subtilis*, що застосовуються в цих оцінках, є такими ж, що визначаються в спороцидному аналізі AOAC. Спори цього організму представляють значну проблему для більшості дезинфікуючих речовин. Час, необхідний для ефекту шести логарифмів зниження числа, відповідає спороцидним властивостям, що заявляються, багатьох холодних засобів, що стерилізують.

Показання ефективності 10 ppm композиції срібла як протимікробного засобу широкого спектра дії

A. Способи

Аналізи MIC (мінімальна інгібіторна концентрація) і MBC (мінімальна бактерицидна концентрація) проводили за стандартним способом мікророзведення живильного бульйону. MIC визначають як найнижчу концентрацію антибіотика, що буде інгібувати (in vitro) ріст інфекційного організму. Результати представлені в мкг на мл. Для медичних антибіотиків інтерпретація даних in vitro заснована на досягненні концентрацій лікарського засобу в сироватці, що може варіювати в залежності від дози, способу введення, ступеня білкового зв'язування, місця інфекції, віку і ваги пацієнта й інших факторів. MBC визначають як найнижчу концентрацію протимікробного агента, необхідну для загибелі 99,9% початкового інокулюма організмів.

Аналіз виконували, вирощуючи чисті культури кожного з організмів у рідкій культурі, що аналізується. Турбидометричні вимірювання засто-

совували для контролю концентрації культури. Серійні розведення кожного аналізованого антибіотика виконали в живильному бульйоні. Розведення розраховували для покриття діапазонів чутливості для кожного організму для кожного агента. Стандартну кількість аналізованої культури додали в кожен пробірник, а пробірники помістили в інкубатор (37±2°C) для росту. Пробірники перевірили турбидометрично для визначення бактеріального росту. Нижче концентрації MIC пробірники показали збільшення оптичної щільності згодом, що вказує на бактеріальний ріст. Найнижчою концентрацією антибіотика, при якій ріст не спостерігався, була MIC. Пробірники, де не спостерігався ріст, потім пересіли на свіже середовище. Пробірником, де не спостерігався ріст, з найнижчою концентрацією антибіотика, у якій не спостерігався ріст при пересіванні, була MBC. Результати показані в Таблиці 3.

В. Результати:

Таблиця 3

Організм	Тетрациклин	Офлоксацин	Пеніцилін G	Цефалеперазон	Еритроміцин	Срібло
<i>S.pyogenes</i>	0,625/>5	1,25/205	>5,0	0,313/1,25	0,003/0,019	2,5/5,0
<i>S.mutants</i>	0,625/>5	2,5/>5	0,521/>5	1,25/>5	0,009/0,019	2,5/10
<i>S.gordonii</i>	0,156/0,625	2,5/5,0	0,009/0,039	1,25/1,25	0,005/0,019	2,5/10
<i>S.pneumoniae</i>	0,078/0,625	2,5/2,5	0,019/0,019	0,313/0,313	0,002/0,004	2,5/2,5
<i>S.faecalis</i>	0,313/>5	1,25/5,0	5,0/>5	>5,0	0,009/1,25	10/10
<i>S.aureus</i>	0,313/>5	0,417/0,625	2,5/>5	5,0/5,0	0,039/>5,0	5,0/5,0
<i>P.aeruginosa</i>	0,078/5	0,156/0,313	0,13/>5	2,5/5,0	2,5/>5,0	1,67/5
<i>E.coli</i>	1,67/>5	0,104/0,156	>5,0	0,625/>5	5,0/>5,0	2,5/2,5
<i>E.aerogenes</i>	>5	0,078/0,156	>5,0	2,92/>5	>5,0	2,5/2,5
<i>E.cloacae</i>	1,67/>5	0,156/0,156	>5,0	>5,0	>5,0	2,5/5,0
<i>S.typhimurium</i>	1,25/>5	0,078/0,156	>5,0	1,25/2,5	5,0/>5,0	2,5/5,0
<i>S.arizona</i>	0,625/>5	0,078/0,078	>5,0	0,833/>5	4,17/>5,0	2,5/5,0
<i>S.boudii</i>	1,25/>5	0,078/0,156	>5,0	0,625/0,625	5,0/>5,0	1,25/1,2 5
<i>K.pneumoniae</i>	2,5/>5	0,417/0,625	>5,0	>5,0	>5,0	2,5/2,5
<i>K.oxytoca</i>	1,25/>5	10,104/0,156	>5,0	1,25/>5	>5,0	1,25/1,25

Дані представлені як MIC/MBC (мінімальна інгібіторна концентрація/мінімальна бактерицидна концентрація) у частинах на мільйон (ppm); ">" означає, що концентрація, яка необхідна для одержання MIC або MBC, була вище, ніж параметри аналізу, що були виміряні під час аналізу. Наприклад, найвища концентрація тетрацикліну, застосовувана для *S. pyogenes*, склала 5 ppm. При цій концентрації усе ще спостерігався ріст при пересіванні пробірок, де не спостерігався ріст. Отже, MBC повинна бути > (більше, ніж) 5 ppm.

MIC/MBC штаму *E. coli* O157:H7, який зв'язують зі спалахами геморагічної діареї і коліту, визначали в наступному дослідженні. Визначили MIC - 2,5 ppm і визначили MBC - 5 ppm.

С. Висновок

Аналізували 10 ppm композицію срібла за даним винаходом і знайшли її як бактеріостатичну і бактерицидну для всіх аналізованих організмів. В інших дослідженнях цю композицію порівнювали з іншими комерційно доступними продуктами коллоїдного срібла і знайшли, що вона має переважну активність у порівнянні з всіма іншими аналізованими препаратами (дані не по-

казані). Найбільш цікаве спостереження складалося в широкому спектрі, яким володіла 10 ppm композиція срібла. Протимікробна активність, що спостерігається, була досить постійною незалежно від визначеного аналізованого організму. За винятком *Streptococcus faecalis* і *Streptococcus aureus* (значення MIC яких склали 10 ppm і 5 ppm, відповідно), значення MIC варіювали від 1,25 ppm і 2,5 ppm і в грампозитивних, і в грамнегативних організмів. Значення MBC змінювалися таким чином від 1,25 ppm до 5 ppm за винятком *Streptococcus mutans*, *Streptococcus gordonii* і *Streptococcus faecalis* (значення MBC яких склали 10 ppm). За даними припускають, що 10 ppm срібла за даним винаходом показують рівний або більш широкий спектр активності, ніж будь-який антибіотик, що аналізується. Антибактеріальні спектри антибіотиків звичайно обмежуються сприйнятливими організмами, але як показують дані, композиція срібла за даним винаходом однаково ефективна і проти грампозитивних, і проти грамнегативних організмів. Дані показують, що в зв'язку з низькою токсичністю, зв'язаною зі сріблом, загалом, і широким спектром протимікроб-

ної активності даної композиції срібла, цей препарат можна ефективно використовувати як альтернативу антибіотикам.

D. Посилання для попереднього Приклада

1. U.S. EPA IRIS Report for Silver-CASRN 7440-22-4.

2. Fox CL, Modak SM. Mechanism of Silver Sulphadiazine Action on Burn Wound. *Infections. Antimicrobial Agents Chemother.* 5:582-588. 1974.

3. Furchner, JE, Richmond CR, and GA Drake. Comparative Metabolism of Radionuclides in Mammals. IV. Retention of Silver-110m in the Mouse, Rat, Monkey, and Dog. *Health Phys.* 15:505-514.1968.

4. Grier, N. Silver and its Compounds in Disinfection, Sterilization, and Preservation. (Seymour S. Block, ed.) 2nd Edn, pp 395-407. 1977.

5. Hindler, JA, and JH Jorgensen. Procedure in Antimicrobial Testing in Diagnostic Microbiology. (CR Mahon and G Manuselis, eds.) pp 63-91.1995.

Показання ефективності 32 PPM композиції срібла проти *Pseudomonas aeruginosa*, *salmonella choleraesuis* і *Staphylococcus aureus*

A. Способи

Pseudomonas aeruginosa ATCC #15442, *Salmonella choleraesuis* ATCC # 10708 і *Staphylococcus aureus* ATCC #6538 аналізували за допомогою AOAC (Association of Official Analytical Chemists AOC Methods, vol. 1, 15th edition, 1990, AOAC Arlington, VA) офіційних способів 955.14, 95515 і 964.02. Пробірки з живильним бульйоном (NBAOAC) інокулювали матковою культурою і пробірки інкубували при 37±2°C. Перенесення в пробірки зі свіжим живильним бульйоном виконали протягом трьох наступних днів при остаточному перенесенні, інкубували при 37±2°C 48-54 години. Культуру *Pseudomonas* декантували у свіжу пробірку для видалення оболонок. Інші культури струшували 3-4 секунди і залишили протягом 10 хвилин при кімнатній температурі. Остаточну культуру розбавили 1:100 лептонною водою (PEPW), до якої додали сироватку коня, для одержання 5% усіх досліджуваних організмів. Носії, що аналізуються, (304 10 мм добре відполірованих циліндра з нержавіючої сталі з 8 мм зовнішнім діаметром і 6 мм внутрішнім діаметром) занурили в досліджуваний розчин на 15 хвилин, видалили, злили рідину і сушили при 37±2°C 40±2 хвилини до застосування.

Стійкість до фенолу. П'ять 1 мл аліквот кожного розведення фенолу, що аналізується, помістили в стерильні аналізовані пробірки і зрівноважили в 20±2°C водяній бані. З інтервалами 30 секунд 0,5 мл кожної культури, що заражає, додали до прийнятних розведень фенолу, збовтували і перенесли на водяну лазню. Після прийнятного часу експозиції 5, 10 і 15 хвилин петлю суспензії брали з пробірок досліду і переміщали в пробірки з летиновим бульйоном (LETH). Пробірки з LETH інкубували при 37±2°C 2 дні.

Титування носія. Для титрування носіїв приготували 10 мл холостої проби розчину лептонного Tween® (торгова назва полісорбату) (PEPT). Два носії помістили в окремі пробірки, що представляють перше 1:10 розведення. Пробірки ене-

ргійно збовтували, щоб досягти однорідності бактерій у розчині, і виконали серійні розведення в 9 мл холостих пробах середовища LETH. Розведені холості проби інкубували при 37±2°C. Остання пробірка з ростом показувала log₀ титр організмів у носії. Для AOAC необхідно, щоб носії мали мінімальні популяції 1x10⁴ КУО/носій.

Аналіз композиції срібла. За допомогою стерильних скляних піпеток 10 мл аліквот приготовлених дезінфікуючих речовин помістили в стерильні аналізовані пробірки і врівноважили в охолодженій водяній лазні при 20±2°C. Не торкаючись сторін аналізованих пробірок, один забруднений сухий носій додали з інтервалом у 30 секунд у кожен пробірку композиції срібла і помістили назад у водяну баню. Для кожного організму аналізували дезінфікуючу речовину проти 60 сухих забруднених носіїв з інтервалами експозиції 5 і 10 хвилин. Після експозиції носії видалили з дезінфікуючої речовини і перемістили в пробірку з LETH. Пробірки з культурою інкубували при 37±2°C 2 дні і позначили їх як позитивні (+) або негативні (0) для вирощування досліджуваного організму.

Контролі. Для кожного організму сухий забруднений носій додали в пробірку з LETH як позитивний контроль. Пробірки з неінокульованим середовищем служили негативними контролями. Після інкубації в усі негативні пробірки додали 1-100 колонеутворюючих одиниць (КУО) відповідних організмів для демонстрації ефективності, що нейтралізує. Для демонстрації забезпечення росту середовищем пробірки негативного контролю також інокулювали тими ж 1-100 КУО всіх трьох організмів. Інокуляційні об'єми помістили в трьох повторюваннях на соя-казеїн-гідролізат-агар (SCDA) для перевірки інокуляційних титрів. Пробірки і чашки інкубували при 37±2°C поки ріст не став помітним у всіх пробірках.

У нейтралізації *P. aeruginosa* початковий титр інокулюма, як визначили, склав >100 КУО, що було занадто високим для протоколу. Оскільки всі оригінальні пробірки були зайняті, імітаційний аналіз виконували з тією ж серією середовища, як і в аналізі, поміщаючи носії в пробірки з дезінфікуючою речовиною для всіх трьох серій композицій срібла на 10 хвилин. Носії перенесли на холості проби з LETH. У ці пробірки потім помістили 1-100 КУО організму. Пробірки інкубували, як зазначено раніше, і позначили "з ростом" або "з відсутністю росту". Нові пробірки зі стерильним середовищем з тієї ж серії також інокулювали як і при перевірці забезпечення росту.

B. Результати

Початковий аналіз з використанням *S. aureus* показав придатні результати для зразків #1 і #2, а зразок #3 був зіпсований. При дослідженні визначили, що зразок #3 зіпсований до використання. Виготовили нову колбу з тієї ж серії, що і зразок #3, нову колбу позначили як зразок #4. Дослідження *S. aureus* повторили за допомогою зразка #4. Критерії AOAC показують, що для будь-якої точки часу й організму, тільки 1 носій дозволяє ріст для кожної аналізованої серії.

Позитивні контролю показали ріст, а негативні контролю не показали ріст для всіх серій, тимчасових точок і організмів.

Титування носія виконали в двох повторюваннях для всіх організмів. Повідомлений титр являє собою середнє від повторювань. Для всіх трьох організмів середній титр, що спостерігається в носіях, варіював від $5,5 \times 10^4$ до $5,5 \times 10^6$ КУО/носії. Для АОАС необхідно, щоб носії мали мінімум $1,0 \times 10^4$ КУО/носії.

Для *P. aeruginosa* 3/180 носіїв показали ріст у 5 хвилинній точці аналізу, а 2/180 носіїв показали ріст у 10 хвилинній точці аналізу. Для *S. aureus* 16/180 носіїв показали ріст у 5 хвилинній точці аналізу, а 2/180 носіїв показали ріст у 10 хвилинній точці аналізу. Для *S. choleraesuis* 6/180 носіїв показали ріст у 5 хвилинній точці аналізу, а 1/180 носіїв показали ріст у 10 хвилинній точці аналізу.

Культура *Pseudomonas*, що аналізується, показала ріст після 5, 10 або 15 хвилинних обробок 1:90 фенолом і показала ріст після 5 або 10 хвилинної обробки 1:80 фенолом, але не було росту після 15 хвилинної обробки 1:80 фенолом. Культура *Staphylococcus* показала ріст після 5, 10 або 15 хвилинних обробок 1:70 фенолом і показала ріст після 5 або 10 хвилинної обробки 1:60 фенолом, але не було росту після 15 хвилинної обробки 1:60 фенолом. Культура *Salmonella* показала ріст після 5, 10 або 15 хвилинних обробок 1:100 фенолом, але не було росту після 5, 10 або 15 хвилинних обробок 1:90 фенолом.

Показання ефективності 32, 22 і 10 ppm срібла та 22 ppm срібла і 1,5% H_2O_2 та 10 ppm срібла і 10 ppm $K_2S_2O_8$ проти *Salmonella* і *Escherichia coli* у зразках свіжо інокульованої яловичини

А. Ціль прикладу

Метою даного прикладу є демонстрація протимікробної активності композиції на основі срібла за даним винаходом на зразках порційного шматка яловичини, інокульованих на зовнішній поверхні сумішшю п'яти штамів видів *Salmonella* або *Escherichia coli* O157:H7 з високим рівнем інокулюма в розчині (1×10 КУО/см) і окремо з низьким рівнем інокулюма в розчині (1×10 КУО/см) (КУО = колонієутворююча одиниця).

В. Матеріал і способи

Зразки яловичини. Зразки яловичої тканини одержали з бойні протягом 8 годин після вибою. Прямий м'яз живота відокремили від туші, що висить у холодильнику, розсікаючи між 11^{ім} і 12^{ім} ребрами, а потім розділили м'яз уздовж напрямку м'язів. Стерильно отримані зразки помістили в пластикові пакети і на лід, і відправили в той же день у лабораторію, де зразки негайно запакували в Multi-Vac (A-300) і помістили в холодильник при 4°C. Зразки, що використовуються для аналізу, мали рН від 5,8 до 6,0 і були терміном не більш ніж 36 годин після вибою. З довільно обраних прямих м'язів живота нарізали 13x8 см зразки й обробили. Після обробки, застосовуючи 3,5 см² стерилізований в полум'ї пристрій для узяття проб з нержавіючої сталі і хірургічний скальпель, стерильно відрізали два серцевинних шматки м'яса з інтервалом добору зразків для кожного зразка. Серцевинні шматки тканини помістили в стерильний пакет для гомогенізатора stomacher з

25 мл 0,1% пептону і змішували протягом двох хвилин у гомогенізаторі stomacher (Lab Bender 400). Серійні розведення приготували і спіральньо висіяли через 0 хвилин, 20 хвилин, 1 годину, 4 години і 24 години після обробки на селективні і відновлені середовища.

Бактеріальні Культури. Бактеріальні культури одержали з колекції маткових культур Канзасського державного університету (KSU) і зберігали в системі збереження "Protected Bead". Застосовували наступні культури для зразка *Salmonella*: *S. lille* (UGA), *S. montevideo* (UGA), *S. typhimurium* (UGA), *S. agona* (KSU 05 від CDC інфекційного ізоляту) і *S. newport* (KSU 06 CDC інфекційного ізоляту). Наступні культури застосовувалися для зразка *Escherichia coli*: *E. coli* O157:H7 (CDC 01 ,03), *E. coli* O157:H7 (USDA-FSIS 011-82 Rif resistant 100 ppm), *E. coli* O157:H7 (ATCC 43895 HUS, зв'язаний з токсинами типу I і II Rif. Res.) і *E. coli* ATCC#23740 (генотип K-12 прототрофний лямбда).

Маточні культури культивували, поміщаючи одну просочену гранулу в 5 мл розчин Difco® трипсиновий соєвий бульйон (TSB) і інкубуючи 24 години при 35°C. Потім петлею з 0,05 мл відповідної культури інокулювали в 5 мл розчину TSB і інкубували 24 години при 35°C для одержання чистої культури. Після інкубації 1 мл відповідної культури інокулювали в 49 мл TSB і інкубували 24 години при 35°C. Після інкубації зразки центрифугували (15300 x g при 4°C), супернатантний матеріал декантували, а осад пересушували з 50 мл 0,1% пептону і центрифугували (15300 x g при 4°C) останній раз. Пелтон декантували, а осад, що залишився, пересушували з 10 мл 0,1% пептону. П'ять 10 мл колб відповідної культури змішали разом для одержання 50 мл коктейлю, що містить 10^9 КУО/мл видів *Salmonella*. Коктейль розбавили до 10^6 КУО/мл або 10^4 КУО/мл за допомогою 0,1% пептону. Культури підтвердили культивуацією на селективних і диференціальних середовищах і біохімічному аналізі ймовірних колоній за допомогою набору API 20E.

Спосіб інокуляції. Зразки порційного шматка яловичини (прямий м'яз живота) обрізали до 13x8 см (104 см²) і інокулювали коктейлем з п'яти штамів видів *Salmonella* або *Escherichia coli* O157:H7 при високому рівні інокулюма в розчині (10^6 log КУО/см²) і окремо при низькому рівні інокулюма в розчині (10^4 log КУО/см²). Цей інокулюм розпилили на поверхню тканини за допомогою пластикової колби, що розпилює, зі зразками, що містяться в закритій камері для інокулюма. Концентрація конкретних видів *Salmonella* на поверхні м'яса склала приблизно 5,0 і 3,4 log КУО/см² для розчину з високим і низьким рівнем інокулюма, відповідно. Для *E. coli* O157:H7 відповідні рівні інокуляції поверхні м'яса склали 4,2 і 3,9 log КУО/см².

Потім зразки яловичини підвісили вертикально на гаках з нержавіючої сталі, що прикріплені до рухливої доріжки, що протягала зразки яловичини крізь камеру тумана моделей (Канзасський державний університет, лабораторія безпеки харчових продуктів), поки застосовували розпилю-

ючі обробки. Застосовували обробки яловичини композиціями срібла за даним винаходом або деіонізовану водою при 20 psi на відстані 13 см у камері промивання моделей під тиском протягом 20 секунд. Розпилююча насадка (BETE NF0580 303) доставляла приблизно 20 мл розчину на поверхню зразка яловичини. Температура розчинів і в кімнаті обробки складала приблизно 14°C. Після обробка дві повторності 3,5 см² центральної частини зразків довільно відібрали з плоскої поверхні зразка яловичини через 0, 20, 60 і 240 хвилин. Зразки культивували і реєстрували на селективному диференціальному і відновленому середовищі. Логарифм зниження числа розраховували, віднімаючи \log_{10} КУО/см² інокульованих/оброблених зразків за специфічний для зразків час (0, 20, 60 і 240 хвилин) від \log_{10} КУО/см² інокульованих/необроблених зразків при 0 хвилин. Обробка зразків включала застосування 32 ppm срібла, 22 ppm срібла і 10 ppm композицій срібла за даним винаходом. Окремо аналізували комбінації 22 ppm Ag з 1,5 вагових % перекису водню і 10 ppm Ag з 10 ppm пероксидисульфату (K₂S₂O₈).

С. Результати з композицією срібла 32 ppm

Застосування композиції срібла 32 ppm за даним винаходом викликає зниження бактерій у біфштексі. У нижченаведеному це зниження виражено як \log_{10} відношення числа бактерій при контролі при часі 0 до кількості бактерій в обробленому зразку при часі спостереження (тобто, лікування).

Для *Salmonella*, на більш низькому початковому рівні бактерій (10⁴), були зареєстровані наступні логарифми зниження числа: 0,78 за 0 хвилин, 1,11 за 20 хвилин, 1,08 за 60 хвилин і 1,23 за 240 хвилин. Таким чином, за 4 години (240 хвилин), відношення початкового рахунку бактерії в контролі бактерії в зразку, обробленому 32 ppm сріблом є 10^{1,23}. Для більш високого початкового рівня бактерій (10⁶) були зареєстровані наступні логарифми зниження числа: 0,86 за 0 хвилин, 0,95 за 20 хв, 0,98 за 60 хв і 1,17 за 240 хв. Результати вказують, що срібло 32 ppm варіанта даного винаходу показує ефективний бактерицидний ефект для *Salmonella* у біфштексі. Буде оцінено, що дезінфекція поверхні м'яса є вкрай сумнівною для будь-якого дезінфектанту.

Для *E. coli* для більш низького початкового рівня бактерій (10⁴) були зареєстровані наступні логарифми зниження числа: 1,03 за 0 хвилин, 1,28 за 20 хвилин, 1,42 за 60 хвилин і 1,58 за 240 хвилин. Для більш високого початкового рівня бактерій (10⁶) були зареєстровані наступні логарифми зниження числа: 0,65 за 0 хвилин, 0,60 за 20 хвилин, 0,83 за 60 хвилин і 0,87 за 240 хвилин. Результати вказують, що срібло 32 ppm варіанта даного винаходу показує ефективний бактерицидний ефект проти патогенної *E. coli* у біфштексі.

Д. Результати з композицією срібла 22 ppm

Результати зі сріблом у воді. Для *Salmonella* при низькому початковому рівні бактерій (10⁴) були зареєстровані наступні логарифми зниження числа: 0,41 за 0 хвилин, 0,43 за 20 хвилин, 0,48 за 60 хвилин і 0,68 за 240 хвилин. Для більш високого початкового рівня бактерій (10⁶) були

зареєстровані наступні логарифми зниження числа: 0,24 за 0 хвилин, 0,24 за 20 хвилин, 0,42 за 60 хвилин і 0,61 за 240 хвилин. Результати вказують, що срібло 22 ppm варіанта даного винаходу забезпечує ефективним бактерицидним ефектом *Salmonella* у біфштексі.

Результати зі сріблом у воді і 1,5 масового % перексиду водню. Для *Salmonella* для більш низького початкового рівня бактерії (10⁴), були зареєстровані наступні логарифми зниження числа: 0,34 за 0 хвилин, 0,33 за 20 хвилин, 0,36 за 60 хвилин і 0,62 за 240 хвилин. Для більш високого початкового рівня бактерії (10⁶) були зареєстровані наступні логарифми зниження числа: 0,28 за 0 хвилин, 0,14 за 20 хвилин, 0,30 за 60 хвилин і 0,69 за 240 хвилин. Результати вказують, що срібло 22 ppm з 1,5 масовим % перексиду водню варіанта даного винаходу забезпечує ефективний бактерицидний ефект для *Salmonella* у біфштексі.

Е. Результати з 10 ppm композицією срібла

Результати зі сріблом у воді. Для *Salmonella* при низькому початковому рівні бактерій (10⁴) були зареєстровані наступні логарифми зниження числа: 0,38 за 0 хвилин, 0,41 за 20 хвилин, 0,39 за 60 хвилин і 0,61 за 240 хвилин. Для більш високого початкового рівня бактерії (10⁶) були зареєстровані наступні логарифми зниження числа: 0,24 за 0 хвилин, 0,21 за 20 хвилин, 0,41 за 60 хвилин і 0,54 за 240 хвилин. Результати вказують, що срібло 10 ppm варіанта даного винаходу забезпечує ефективний бактерицидний ефект для *Salmonella* у біфштексі.

Результати з композицією срібла у воді з 10 ppm K₂S₂O₈. Для *Salmonella* при низькому початковому рівні бактерій (10⁴) були зареєстровані наступні логарифми зниження числа: 0,26 за 0 хвилин, 0,28 за 20 хвилин, 0,35 за 60 хвилин і 0,58 за 240 хвилин. Для більш високого початкового рівня бактерії (10⁶) були зареєстровані наступні логарифми зниження числа: 0,03 за 0 хвилин, 0,16 за 20 хвилин, 0,21 за 60 хвилин і 0,36 за 240 хвилин. Результати вказують, що срібло 10 ppm з 10 ppm пероксидисульфатом калію (K₂S₂O₈) варіанти даного винаходу забезпечує ефективний бактерицидний ефект для *Salmonella* у біфштексі.

Доказ ефективності срібла 10 ppm при лікуванні захворювань людей

А. Призначення прикладу

Призначення даного прикладу - демонструвати корисність композицій, заснованих на сріблі, варіантів даного винаходу для лікування різних захворювань людей. Дослідження в цьому розділі були виконані в Ghana, West Africa, у Air Force Station Hospital під керівництвом Dr. Kwabiah, у Korie-Bu Teaching під керівництвом Sr. Sackey і в Justab Clinic/Maternity Hospital під керівництвом Dr. Abraham. Всього п'ятдесят вісім (58) пацієнтів були вилікувані, застосовуючи композицію срібло/вода даного винаходу, включаючи срібло 10 ppm. Композиція застосовувалася і внутрішньо, і зовні як альтернатива традиційним антибіотикам. Хвороби, що лікувалися, включали малярію, верхні інфекції дихальних шляхів, інфекції сечових шляхів, синусит, інфекційна молочниця, інфекції

ока, носа і вуха, порізи, грибкові шкірні інфекції і хвороби, що передаються статевим шляхом, такі як гонорея.

В. Способи лікування і результати

Біль у животі і діарея. Спосіб включає крок введення приблизно 5-25 мл композиції срібла від одного до п'яти разів у день перорально, поки була відповідна реакція. Один пацієнт лікувався приблизно 10 мл (біля двох чайних ложок) композиції даного винаходу три рази в день. Пацієнт видужав за один день.

Бронхіт. Спосіб включає крок введення приблизно 2-25 мл композиції срібла перорально, від одного до п'яти разів у день поки була відповідна реакція. Двоє пацієнтів лікувалися приблизно 5 мл (біля однієї чайної ложки) кожної композиції даного винаходу два рази в день протягом двох днів. Пацієнти видужали за три дні.

Молочниця (Candida). Спосіб включає крок введення приблизно 5-25 мл композиції срібла від одного до п'яти разів у день як піхвовий душ, поїш була відповідна реакція. П'ятеро пацієнтів лікувалися приблизно 10 мл (біля двох чайних ложок) кожної композиції даного винаходу два рази в день протягом двох днів. Пацієнти видужали протягом шести днів.

Кон'юнктивіт. Спосіб включає крок введення приблизно декількох крапель композиції срібла від одного до п'яти разів у день у заражене око, поки була відповідна реакція. Двоє пацієнтів лікувалися приблизно декількома краплями композиції даного винаходу в кожне з заражених очей два рази в день. Пацієнти видужали за один день.

Зовнішні поранення й інфекція (включаючи Staphylococcus шкірні інфекції, септичні виразки й інфіковані наріви). Спосіб включає крок введення композиції срібла від одного до п'яти разів на день до зараженої площі, поки була зворота реакція. Шість пацієнтів приймали приблизно 5 мл (біля однієї чайної ложки) кожної композиції за даним винаходом двічі в день. Пацієнт видужали протягом трьох днів.

Зовнішній отит. Спосіб включає крок введення композиції срібла від одного до п'яти разів на день у заражене вухо, поки була відповідна реакція. Шість пацієнтів лікувалися приблизно двома краплями композиції даного винаходу в заражені уші тричі в день. Пацієнти видужали протягом чотирьох днів.

Середній отит. Спосіб включає крок введення композиції срібла від одного до п'яти разів на день у заражене вухо, поки була відповідна реакція. Один пацієнт лікувався приблизно двома краплями композиції даного винаходу в інфекційне вухо тричі в день. Пацієнт видужав протягом чотирьох днів.

Грибкова шкірна інфекція. Спосіб включає крок введення композиції срібла від одного до п'яти разів на день до зараженої площі, поки була відповідна реакція. Двоє пацієнтів лікувалися приблизно десятьма мл (дві чайні ложки) кожної композиції даного винаходу тричі в день. Пацієнти видужали протягом восьми днів.

Гонорея. Спосіб включає крок введення композиції срібла до зараженої площі, поки була від-

повідна реакція. Кожний із двох пацієнтів лікувалися десятьма мл (дві чайні ложки) композиції даного винаходу тричі в день. У пацієнтів зникли симптоми протягом шести днів.

Малярія. Спосіб включає крок введення композиції срібла від одного до п'яти разів у день перорально пацієнту, поки була відповідна реакція. Одинадцять пацієнтів лікувалися при першому вивченні десятьма мл (дві чайні ложки) кожної композиції даного винаходу тричі в день. Пацієнти показали зникнення симптомів протягом п'яти днів. Більш докладно протоколи малярії обговорювалися в даному описі пізніше.

і гінгівіт. Спосіб включає крок введення композиції срібла від одного до п'яти разів у день як рідина для полоскання рота, поки була відповідна реакція. Кожний із двох пацієнтів лікувалися композицією як рідиною для полоскання рота. Повне зникнення симптомів було протягом трьох днів (гінгівіт) і протягом одного дня (галітоз).

Запалення органів таза. Спосіб включає крок введення приблизно 5-25 мл композиції срібла від одного до п'яти разів у день як вагінальний душ, поки була відповідна реакція. Один пацієнт лікувався приблизно 5 мл (приблизно одна чайна ложка) композиції даного винаходу двічі в день. Симптоми папістів зникли протягом п'яти днів.

Фарингіт. Спосіб включає крок введення композиції срібла від одного до п'яти разів у день у вигляді полоскання, поки була відповідна реакція. Кожний і чотирьох пацієнтів лікувалися приблизно десятьма мл (дві чайні ложки) композиції даного винаходу тричі в день. Симптоми пацієнтів зникли протягом шести днів.

Ретровірусна інфекція (HIV). Спосіб включає крок введення композиції срібла, що включає від 5 до 40 ppm срібла, від одного до п'яти разів у день перорально, поки була відповідна реакція. Один пацієнт, що виявляє HIV (вірус імунодефіциту людини), лікувався приблизно 5 мл (приблизно одна чайна ложка) композиції даного винаходу двічі в день. Симптоми пацієнтів зникли протягом п'яти днів.

Синусит і риніт. Спосіб включає крок введення композиції срібла від одного до п'яти разів у день у ніс, поки була відповідна реакція. Шестеро пацієнтів з назальними інфекціями (чотири із синуситом і два з ринітом) лікувалися приблизно двома композиції даного винаходу для носових проходів тричі в день. Пацієнти видужали протягом чотирьох днів.

Тонзиліт. Спосіб включає крок введення композиції срібла від одного до п'яти разів у день у вигляді полоскання, поки була відповідна реакція. Один пацієнт лікувався композицією даного винаходу тричі в день. Пацієнти видужали протягом семи днів.

Інфекція верхніх дихальних шляхів. Спосіб включає крок введення композиції срібла від одного до п'яти разів у день перорально, поки була відповідна реакція. Двоє пацієнтів лікувалися приблизно 5 мл (приблизно одна чайна ложка) композиції даного винаходу тричі в день. Пацієнти видужали протягом шести днів.

Інфекція сечовивідних шляхів. Спосіб включає крок введення композиції срібла від одного

до п'яти разів у день перорально, поки була відповідна реакція. Троє пацієнтів лікувалися приблизно десятима мл (дві чайні ложки) композиції даного винаходу від двох до трьох разів у день. Пацієнти видужали протягом шести днів.

Ці результати сумісні з різними аналізами *in vitro*, як повідомлено в даному описі. По суті, композиція срібла надзвичайно ефективна проти великої кількості мікробів *in vitro*. Проте, аналізи вказують, що ця ефективність залишається навіть у присутності великої кількості органічного матеріалу. Композиція срібла дуже ефективна *in vivo*, де органічний фон надзвичайно високий. Ряд інших дезінфікуючих агентів не ефективні в присутності великої кількості органічного матеріалу і/або занадто їдкі або токсичні для застосування *in vivo*.

Додаткове вивчення малярії в Гані, Африка

Інше регламентоване вивчення також було проведено в Ghana. Метою даного вивчення було застосовувати дуже специфічний протокол і зосередитися тільки на лікувальних властивостях 10 ppm композиції срібло/вода даного винаходу пацієнтів, у яких інфекційна малярія.

Метою даного протоколу був винахід процедури, за допомогою якої 10 ppm розчин срібло/вода був отриманий відповідно до способів, що тут аналізувалися для своїх можливих лікувальних властивостей при лікуванні пацієнтів, у яких інфекційна малярія з будь-якими з чотирьох (4) зразків *Plasmodium*. Загальний огляд протоколу представлений нижче:

Іспити проводилися в медичних клініках або лікарнях медиками (MD), що були дуже знайомі з захворюванням і його відхиленням здоров'я. Усього було 16 досліджуваних пацієнтів на лікаря, і пацієнтам було необхідно приймати продукт срібла двічі в день протягом п'яти днів, так само як здати аналіз крові за один день до початку іспиту, і потім щодня, поки аналіз крові показав, що паразит був усунутий менше, ніж за два дні. Пацієнтам би заплатили, якби вони цілком дотримувались схеми прийому срібла і при одержанні щоденних аналізів крові.

Деталі протоколу:

Число медиків (MD), включених в аналіз: 2

Число пацієнтів, перевірених лікарем: 16-8 чоловіків і 8 жінок

Повне число днів для іспиту: 15

Доза 10 ppm композиції срібло/вода була дана для лікування пацієнтів: Повна щоденна доза однієї унції розділена на дві еквівалентні дози; половина унції (3 чайні ложки) приймається вранці і половина унції (3 чайні ложки) приймається

Короткий опис

ввечері. Пацієнти лікувалися розчином срібло/вода протягом перших п'яти (5) днів повного 15-денного іспиту, або якщо паразит був не цілком знищений за п'ять днів, лікування сріблом/водою продовжувалося, поки паразит не буде знищений, або до 15 дня, до початку дослідження.

У випадку пацієнта, де паразит був цілком знищений за два або три дні, срібло/воду продовжували давати до п'ятого дня, а в записах примітка була зроблена, коли паразит був цілком знищений.

У випадку пацієнта, у якого все ще виявлявся паразит після прийому срібла/води протягом 15 днів, іспит було закінчено як звичайно, а цей пацієнт був зареєстрований як пацієнт із невдалим лікуванням.

Для пацієнта, що лікувався менше п'яти днів, була записана дата повного зникнення паразита, пацієнт продовжував приймати срібло/воду до п'ятого дня, і продовжував іспит до 15 дня.

Аналізи крові:

Аналізи крові, що застосовувалися: Досліджувалася присутність (або відсутність) паразитів у крові або пацієнтів аналізом з акридиновим жовтогарячим фарбуванням, або аналізом з барвником Гімза на товстих або тонких мазках крові кожного пацієнта. Кров пацієнтів аналізувалася в день нуль (0) для встановлення, що вони дійсно, фактично, мали активний випадок малярії. Якщо аналіз крові підтвердив активний випадок малярії, потім цього пацієнта обстежували для прийняття іспиту. Обстеження включало запис даних, таких як ім'я, вік, пацієнт повідомив про початок хвороби, інформування пацієнта, що їм необхідно протягом іспиту, що вони заплатять при повній згоді, і той факт, що незгода приведе до усунення з іспиту без винагороди. Пацієнтам, що погодилися приєднатися до іспиту, були видані письмові інструкції, у яких їм пропонувалося, як приймати продукт срібла щодня, куди ходити щодня для здачі аналізів крові, і підкреслювалася необхідність повного дотримання протоколу іспиту, а також порядок оплати за кожний день.

Вищеописаний протокол строго дотримувався при найновішому вивченні в Ghana, Africa. Усі пацієнти одержали те ж саме дозування, і їхня кров перевірялася щодня для дослідження існування паразитів *Plasmodia*. Нижченаведений список порцій у таблиці 4 ранніх вивчень, обговорених вище (вивчення 1 і вивчення 2), так само як і нове вивчення 3, що слідував за протоколом, розташованим безпосередньо тут.

Таблиця 4

Вивчення	1	2	3	4
Кількість пацієнтів	11	16	16	13
Вік	8-75	2-90	3-61	15-57
Чоловіків/жінок	NA	NA	8/8	6/7
Середнє щоденне дозування	10 мл	5мл	15мл	15мл
Найкоротший час відновлення	3 дні	3 дні	2 дні	3дні

Вивчення	1	2	3	4
Найдовший час відновлення	7 днів	10 днів	8 днів	6 днів
Середній час відновлення	5 днів	6,3 дні	4,3 дні	4 дні
# пацієнти, що перевірені на plasmodia	0	7	16	13
# пацієнти, w. plasmodia	0	0	0*	0*
# невдале лікування	0	0	0	0

Часи відновлення відмічали у пацієнтів, які не мали симптомів прояву хвороби, як планувалося лікуваннями.

* Кожний з цих пацієнтів перевірявся щодня протягом 14 днів. Після закінчення шести днів, кожний з їх зразків крові аналізували на відсутність Plasmodia.

Видно, що 10 ppm розчину срібло/вода за даним винаходом мав істотні позитивні ефекти проти паразита малярії.

Доказ ефективності 100 ppm срібла проти малярії (in vitro)

Введення

У глобальному масштабі, малярія була і залишається головною проблемою охорони здоров'я. Хвороба викликана паразитичним протозою роду Plasmodium. Цикл життя даного організму є складним із паразитизмом, при якому чергується полова репродуктивність в безхребетному (москіті) хазяїні з безстатевою репродуктивністю в хребетному хазяїні, птахи та рептилії також служать хазяїнами для малярійних паразитів. Частина циклу життя в москіті являє собою фазу спорування, що приводить до формування спорозоїдів, які вводяться вектором хребетному хазяїну під час харчування. Спорозоїди дають початок фазі шизонту зі швидким збільшенням паразитів в еритроцитних та екзоеритроцитних ділянках. Паразит є позаклітинним протягом своєї фази спорування, переходячи до внутрішньоклітинного розміщення протягом шизогонних стадій розвитку. In vitro культивування паразита вимагає умов моделювання у векторі москіта для фази спорування циклу життя і для шизогонної фази, умов, що забезпечують екзоеритроцитні та еритроцитні розміщення у хребетних хазяїнах.

Малярія є однією із самих всесвітньо розповсюджених паразитичних хвороб та є не менш ніж третьою в світі серед головних інфекційних хвороб за показниками смертності. Протозойний паразит, що викликає малярію, належить роду Plasmodium. Чотири види протозойного Plasmodium, що викликають малярію: Plasmodium falciparum, Plasmodium vivax, Plasmodium malariae та Plasmodium ovale. Передаються переважно Anopheles mosquito, інфекції малярії можуть також відбутися через контакт з зараженою кров'ю, наприклад, при переливаннях крові.

Класичні симптоми малярії включають лихоманку, головні болі, озноб, блювоту, тремор і конвульсії. У деяких рідких формах falciparum malaria можуть бути відсутніми озноб і лихоманка, а пацієнт може знаходитися в маревному стані або у комі. Періоди ремісії можуть тривати від декількох тижнів до декількох місяців. Серйозну анемію часто приписують причині смерті від інфекції малярії.

Plasmodium falciparum:

Цей паразит має кілька важливих особливостей. Вони включають зростаючу форму гаметоциту, повільну швидкість росту останнього і розміщення пігменту навколо ядра (біляядерний розподіл), що відсутній у гаметоцитах малярійних паразитів іншого примата.

P. falciparum також відрізняється від інших видів, що паразитують на людях, своєю більшою вірулентністю та летальними ефектами, оскільки шизогонія еритроцитних стадій у значній мірі обмежена капілярами і синусоїдами внутрішнього органа. Популярна назва хвороби, викликаной P. Falciparum, є "триденна блискавична малярія".

Матеріали і способи

Цитратний сольовий розчин:

Хлорид натрію 9 г

Цитрат натрію 20 г

Дистильована вода 1000 мл

Барвник Гімза:

Сатиновий порошок Гімза 75 г

Абсолютний спирт 75 мл,

Гліцерол 25 мл.

Барвник Філда:

Розчин Філда # 1

1. Розчинити 1,6 г метиленового синього в 1 літрі дистильованої води.

2. Розчинити 2,6 г Na_2HPO_4 (безводний) у розчині з етапу 1.

3. Розчинити 1 г азура 1 у розчині з етапу 2.

4. Розчинити 2,6 г KH_2PO_4 у розчині з етапу 3.

5. Помістити на слабе полум'я з перемішуванням або збівтуванням від 45 хвилин до 1 години.

6. Залишити при кімнатній температурі на 24 години.

7. Відфільтрувати.

Розчин Філда # 2

1. Розчинити 2 г Eosin Y у 1 літрі дистильованої води.

2. Розчинити 2,6 г Na_2HPO_4 у розчині з етапу 1.

3. Розчинити 2,6 г KH_2PO_4 у розчині з етапу 2.

4. Відфільтрувати.

Барвник Райта:

Порошок барвника Райта 6,0 г

Порошок барвника Гімза 0,6 г

Метанол 1,000 мл

Перемішувати всю ніч і відфільтрувати до застосування.

Людська сироватка/плазма крові групи АВ+

Людська сироватка/плазма крові групи А+

RPMI -1640 неповне середовище

(Personal Communication Dr. Sutar, Haffkine Institute, Parel)

RPMI -1640 повне середовище

(Personal Communication Dr. Sutar, Haffkine Institute, Parel)

Збір та обробка інфікованої крові

Інфіковані паразитами еритроцити були отримані шляхом збору 6 мл аліквот крові в 1 мл лимоннокислого соляного розчину венопункцією клінічно діагностованих хворих, інфікованих малярією *Plasmodium vivax* і *Plasmodium falciparum*, що спостерігаються в Kastruba Infections Disease Hospital, Бомбей. Зразки крові були зібрані в 10 мл стерильні пробірки. Зразки були перевірені шляхом підготовки тонких мазків і фарбування цих мазків 10% барвником Гімза/Філда/Райта для виявлення і підтвердження зразків малярійного паразита. Регістрували рівень або відсоток ураження паразитом.

Інфіковані паразитами кров'яні клітини двічі промили один раз неповним і один раз повним середовищем та 6% суспензією приготували в повному середовищі. Культури розподілили у чашки Петрі по 0,5 мл суспензії в кожну чашку. До них додали 1,5 повного середовища і чашки інкубували в атмосфері 5% O₂ і 14-17% CO₂. Середовище щодня мінялося шляхом видалення старого середовища стерильною насосною піпеткою і додавання 1,5 повного середовища. Культури підтримувалися додаванням свіжих клітин (груп крові A+ і AB+; промивну і клітинну суспензію готували таким самим способом) через тиждень із промиванням 2 рази в тиждень доти, поки цільовий паразитний індекс досягав >1%. Якщо мінімальний паразитний індекс був менш 1%, тоді суміш кров'яного середовища використовували безпосередньо для чутливості препарату (Thanh, 2001) і (Thanh, 2002).

Виготовлення мазків і методика фарбування

Культури промивалися двічі в тиждень. Для промивання культури забирали з чашок і поміщали у центрифужні пробірки. Близько 5 мл неповного середовища додавали в кожну центрифужну пробірку і ретельно перемішували. Пробірки центрифугували при 1000-1500 оборотів/хв. близько 10 хвилин. Через 10 хвилин, пробірки витягали з центрифуги, а супернатантну рідину зливали. Пізніше культури піддавали двом або більш однаковим промиванням: одно з неповним RPMI-1640, а інше з повним RPMI-1640 середовищем. Мазок готували з кожною культурою й офарблювали барвником Гімза/Філда/Райта. Близько 1,5 мл середовища додавали до кожної чашки, а мазки перевіряли під оптичним мікроскопом на предмет паразитичного індексу або відсотка паразитимії, результати записували для кожної культури. Свіжі еритроцити додавали до кожної чашки щотижня.

Виготовлення мазків

Краплю культури переносили з чашки на предметне мікроскло. Робили тонкий мазок і висушували на повітрі. Цей мазок фіксували шляхом занурення предметного скла в судину для фарбування, наповнена чистим спиртом. Готували 10% розчин барвника Гімза і використовували для фарбування мазків. Предметні стекла витри-

мували в 10% розчині барвника Гімза близько 30-40 хвилин, потім промивали під водопровідною водою.

Паразитний індекс

Паразитний індекс обчислювали шляхом розрахувати кількості паразитів на 100 еритроцитів у тонких кров'яних мазках. Мінімум 100 полів 10000 RBCs були досліджені для цих цілей.

Системи культур

Культури у чашках готували з 5% гематокритом і близько 1% паразитемією. Чим нижче початкова паразитемія, тим більше підвищення числа паразитів, що з'являються в процесі *in vitro* росту.

Чутливість до препарату

16 мм стерильні мікролункові планшети з плоским дном використовували для визначення чутливості до препаратів. Кожний використовували для одного зразка. Перші дві лунки були використані для контролю, до них помістили 50 мкл BMM пацієнтів або культуру та 50 мкл повного середовища RPMI і без препаратів. Для аналізу 50 мкл культури або BMM пацієнтів змішували в лунці, що містить 50 мкл розроблених срібних наночастинок (ESNP) у різних концентраціях. Мікролункові планшети накривали і інкубували при температурі 37°C у контейнері близько 48 годин. Більшість паразитів увійшла до стадії шизонту наприкінці 48 годин інкубування. Після інкубації за допомогою мікропіпетки витягали супернатантне середовище, кров з кожної лунки бралася з метою виготовлення мазків і досліджувалася на предмет шизонтного розвитку. Аналіз проводили шляхом підрахунку кількості паразитів на пофарбованих плівках до і після інкубації і визначення ESPN інгібування шизонтоного утворення. Для правильного аналізу контрольна лунка повинна була показувати >10% шизонтоної матації. (Wernsdorfer and Wernsdorfer, 1995).

Результати

Зразки	% зниження паразитів
<i>Plasmodium falciparum</i>	94%
<i>Plasmodium vivax</i>	92%
<i>Plasmodium berghei</i>	90%

In vitro аналіз, використовуваний для визначення протималярійної ефективності показав у підсумку, що ESPN 100 ppm здатно знижувати кількість паразитів *in vitro*. Що дуже важливо, тому що паразити були зібрані у пацієнтів з ригідністю, підвищеною температурою і класичними симптомами малярійної інфекції.

Визначення ефективності 10 ppm срібла проти *Tuberculosis bacteria*

А) Мета

Метою даного приклада є демонстрація ефективності композиції срібла, що є предметом даного винаходу проти бактерії, що викликає туберкульоз. Цей приклад описує методики для оцінки даного винаходу на предмет протитуберкульозної ефективності. Методологія базується на Аналізі Туберкульозної Активності, прийнятому ЕРА 11 грудня 1985.

Б) Матеріали і методи.

Матеріали. Композиція срібла, що є предметом даного винаходу, включала 10 ppm срібла у воді. Композиція срібла оцінювалася з використанням рідини в рідкій матриці проти *Mycobacterium bovis* BCG (TMC 1028). Цей організм викликає туберкульоз у тварин і може викликати туберкульоз у людей. Даний організм використовувався як "замісник" для *M. tuberculosis*, головного збудника людського туберкульозу, оскільки, як показали аналізи, сприйнятливості до нього подібна сприйнятливості до туберкульозу *M. tuberculosis*. Аналізований організм був підданий дії композиції срібла у двох повторностях чотири рази і кількісно використовуючи мембранну фільтрацію.

Методика. Взяли та розморозили ампулу замороженої маткової культури. Рівний об'єм буферного желатину (BUGE) додали до клітинної суспензії і гомогенізували Teflon® (торгова марка політетрафтороетилену) тканинним гомогенізатором протягом 1 хвилини з витриманням культури при 0-4°C у крижаній ванні. Гомогенізовану клітинну суспензію змішали із сольовим розчином Tween® 80 (торгова марка полісорбату) (ST80) до приблизно 10^7 КУО/мл.

Титрування проб. Десятикратні послідовні розведення культур приготували в судинах для розведення, що містять 9 мл нейтралізуючого бульйону з розчиненням 10^{-6} . Три 1 мл аліквоти відповідних розведень відфільтрували мембраною шляхом першого додавання 10-20 мл фізіологічного сольового розчину (PHSS) до основи фільтра і потім додали 1 мл аліквоту відповідного розведення. Потім фільтр споліскували приблизно 100 мл PHSS. Фільтри асептично видалили з основи фільтра та перенесли на агарові чашки 7H11. Чашки інкубували в зволоженій камері при температурі $37\pm 2^\circ\text{C}$ 21 день.

Позитивний контроль. Приготували пробірку, що містить 9 мл ST80, і врівноважили при $20\pm 0,5^\circ\text{C}$. У час 0 1 мл аналізованої культури організму додали до пробірки (з розведенням 1:10). Зразок витримували 60 хвилин. Десятикратні серійні розведення приготували у холостих пробах розведення, що містять 9 мл NEUB з розведенням 10^{-6} . Три 1 мл аліквоти відповідних розведень відфільтрували мембраною шляхом першого додавання 10-20 мл фізіологічного сольового розчину до основи фільтра, а потім додавання 1 мл аліквоти відповідного розчину. Фільтри промили приблизно 100 мл PHSS. Фільтри асептично видалили з основи фільтра і помістили на чашки з агаром 7H11. Чашки інкубували в зволоженій камері при температурі $37\pm 2^\circ\text{C}$ 21 день.

Аналіз. Дві камери 25x150 мм, що містять 9 мл аналізованого зразка були урівноважені при $20\pm 0,5^\circ\text{C}$ у водяній ванні. У кожну пробірку, що містить аналізований дезінфікуючий засіб (наприклад, композицію срібла), додавали 1 мл аналізованої культури організму. Вміст пробірки змішали закручуванням та помістили назад у водяну ванну. Через 15, 30, 45 та 60 хвилин 1,0 мл суспензії клітин у дезінфікуючому засобі додавали до 9 мл NEUB і ретельно змішували. Десятикратні серійні розведення приготували в холостих пробах розведення, що містять 9 мл NEUB з роз-

веденням 10^{-6} . Три 1 мл аліквоти відповідних розведень відфільтрували мембраною шляхом першого додавання 10-20 мл PHSS до основи фільтра і потім додавання 1 мл аліквоти відповідного розведення. Фільтр споліскували приблизно 100 мл PHSS. Фільтри асептично видалили з основи фільтра та помістили на чашки з агаром 7H11. Пластини інкубували в зволоженій камері при температурі $37\pm 2^\circ\text{C}$ 21 день.

Контроль фенолу. Щоб продемонструвати мінімальну життєздатність і стійкість, культуру перевірили проти 0,8% фенольного розчину. 1 мл аліквоту аналізованої культури організму помістили в 9 мл розчину фенолу, урівноважений при $25\pm 0,5^\circ\text{C}$, і інкубували 20 хвилин. Після періоду експозиції 1 мл розчину фенол/організм видалили і додавали до 9 мл NEUB. Десятикратні серійні розведення приготували в холостих пробах розведення, що містять 9 мл NEUB з розведенням 10^{-6} . Три 1 мл аліквоти відповідних розведень були відфільтровані мембраною шляхом першого додавання 10-20 мл PHSS до основи фільтра і потім додавання 1 мл аліквоти відповідного розведення. Фільтр споліскували приблизно 100 мл PHSS. Фільтри асептично видалили з основи фільтра та помістили на чашки з агаром 7H11. Чашки інкубували в зволоженій камері при температурі $37\pm 2^\circ\text{C}$ 21 день.

Перевірка нейтралізації. 1 мл аліквоту дезінфікуючого засобу додали до 8 мл NEUB. Дезінфікуючий засіб/нейтралізатор довели до тієї самої температури, що і аналізовані зразки. 1 мл аналізованої культури організму додали до суміші та перемішали. Інкубування продовжили протягом часу, необхідного для фільтрування зразка. Крім того, 1 мл аліквоту аналізованого організму додали до 9 мл NEUB та перемішали (1:10 розведення). Десятикратні серійні розведення обох пробірок приготували в холостих пробах для розведення, що містять 9 мл NEUB з розведенням 10^{-6} . Три 1 мл аліквоти відповідних розведень відфільтрували на мембрані першим додаванням 10-20 мл PHSS до основи фільтра та потім додаванням 1 мл аліквоти відповідного розведення. Фільтр промили приблизно 100 мл PHSS. Фільтри асептично видалили з основи фільтра та помістили на чашки з агаром 7H11. Чашки інкубували в зволоженій камері при температурі $37\pm 2^\circ\text{C}$ 21 день.

С) Результат

Початковий титр випробуваної культури складав $4,7\times 10^7$ КУО/мл. Титр позитивного контролю складав $6,5\times 10^7$ КУО/мл. Середовище, використовуване в даному дослідженні, ефективно демонструвало нейтралізацію з відсотком відновлення 95,2% у розчині дезінфікуючий засіб/нейтралізатор, у порівнянні із холостою пробою середовища.

Для аналізованих чашок очікувані підрахунки були недооцінені і тому для представлених підрахунків використовується знак ">", щоб продемонструвати, що підрахунок виконали та його точне значення лежить за межами виявлення для висіяних розведень.

В обчисленні логарифма і відсотка зниження числа *M. bovis* дезінфікуючи засобом, передбачу-

ваний підрахунок, що мав значення "більше ніж", у підсумку був приведений як логарифм і відсоток зниження числа "менше ніж" "<". Мета цього полягає у демонструванні того, що результати оцінюються і лежать поза точним значенням виявлення для засіяних розведень. Усі значення зниження числа були обчислені з використанням позитивного контролю в якості ініціюючого початкового титру організму. Результати для логарифма і відсотка зниження числа приведені нижче. Як міра стійкості випробуваної культури стійкий до фенолу *M. bovis* показує приблизно 1,8 логарифм зниження числа з 20 хвилинами з експозицією 0,8% фенолу.

Перша повторність

Час утримання	Log зниження числа	Процент зниження
15 хвилин	<0,12	12,3%
30 хвилин	<0,22	40,0%
45 хвилин	<1,57	97,2%
60 хвилин	<1,56	97,2%

Друга повторність

Час утримання	Log зниження числа	Процент зниження
15 хвилин	<0,26	44,8%
30 хвилин	<0,20	36,9%
45 хвилин	<1,58	97,3%
60 хвилин	<1,53	97,1%

Д) Висновок

Використання композицій срібла, що є предметом даного винаходу, ефективно проти бактерій туберкульозу. Метод, що включає етап введення композицій срібла, що є об'єктом даного винаходу, ефективний проти туберкульозних мікроорганізмів.

Визначення ефективності 10 ppm срібла проти *Candida albicans* ATCC #10231, *Trichomonas vaginalis* ATCC #20235 та *MRSA Staphylococcus aureus* ATCC #BAA-44

А) Мета прикладу

Мета цього прикладу полягає в тому, щоб проілюструвати ефективність застосування композицій срібла, що є предметом даного винаходу, проти *Candida albicans* ATCC 10231, *Trichomonas vaginalis* ATCC 20235, та стійкого до препарату *Staphylococcus aureus* ATCC BA-44.

Candida albicans, дріжджовий грибок, та *Trichomonas vaginalis*, протозоа, можуть викликати численні проблеми зі здоров'ям, включаючи вагінальні інфекції, попілість та пліснявку. Результати, приведені нижче, показують, що композиції срібла, що є предметом даного винаходу, знищують практично 100% обох організмів. Результати показують практичну користь композицій срібла, що є предметом даного винаходу, при виробництві засобів жіночої гігієни і засобів від попілостей.

Staphylococcus aureus при потраплянні у рани може викликати серйозне зараження крові. Раніше його легко усували за допомогою пеніциліну,

але зараз організм мутував до такого ступеня, що виявляє абсолютну стійкість до пеніциліну. Наступним захисним компонентом з ряду антибіотиків був метицилін, але стійкі до метициліну штами стали з'являтися все частіше й частіше, особливо в лікарнях. Ці штами відомі як *MRSA* (стійкий до метициліну *Staphylococcus aureus*) та "супермікроб". Люди, заражені *MRSA*, можуть вмерти протягом кількох днів. За результатами даного прикладу було встановлено, що композиції срібла, що є предметом даного винаходу, убивають 91,6% *MRSA* усього за 10 хвилин та 99,5% протягом години. Результати показують практичну користь композицій срібла, що є предметом даного винаходу, при знищенні *MRSA*, відомої інфекційної погрози.

Б) Методи і результати

При використанні USP аналізу швидкої проби з композицією за даним винаходом, що включає 10 ppm срібла у воді, були отримані наступні результати. Ці результати показують, що композиції срібла, що є предметом даного винаходу, можуть бути ефективними проти інфекцій дріжджових грибків, протозойних інфекцій та стійких до препаратів бактерій.

Candida albicans ATCC *10231. Початкова концентрація дріжджового грибка *Candida albicans* була $6,8 \times 10^5$ КУО/мл. Після контакту протягом 10 хвилин, 30 хвилин, 1 години або одного дня з композицією срібла колонії не були виявлені.

Trichomonas vaginalis ATCC *30235. Початкова концентрація протозойної *Trichomonas vaginalis* складала $6,0 \times 10^4$ КУО/мл. Після контакту з композицією срібла протягом 10 хвилин, 30 хвилин, 1 години або одного дня було зафіксовано 0% рухливості 100 організмів. Таким чином, сто (100) паразитів *Trichomonas vaginalis* були проаналізовані за допомогою мікроскопії на предмет рухливості бактеріальних джгутиків. Жоден зі ста (100) паразитів не продемонстрував рухливість через десять (10) хвилин контакту з композицією срібла, що свідчить про інгібіторну або летальну дію композиції срібла стосовно паразитів. Зовнішні мембрани двадцяти п'яти (25) відсотків паразитів були зруйновані після контакту протягом дня.

Staphylococcus aureus *MRSA* ATCC *BAA-44. Початкова концентрація стійкого до метициліну *Staphylococcus aureus* (*MRSA*) складала $6,0 \times 10^6$ КУО/мл. Після контакту з композицією срібла протягом 10 хвилин було виявлено 500000 КУО/мл, (знищено 91,6%), 70000 КУО/мл після контакту протягом 30 хвилин (знищено 98,8%), 30000 КУО/мл після контакту протягом 1 години (знищено 99,5%), і менш ніж 10 КУО/мл після контакту протягом дня (фактично повне знищення).

Визначення ефективності 10 ppm срібла + 1,5% H_2O_2 і 22 PPM срібла при інгібуванні ДНК-Полімерази та зворотної транскриптази в контексті вірусу гепатиту В

А) Мета прикладу

Мета прикладу полягає в тому, щоб проілюструвати ефективність композиції срібла, що є предметом даного винаходу, проти вірусу гепатиту В. Цей приклад показує, що композиції срібла,

що є предметом даного винаходу, мають антивірусні властивості. Будь-який агент, використовуваний в антивірусній терапії, повинний демонструвати невелику цитотоксичність або її відсутність, тому була проаналізована цитотоксичність композицій срібла.

Гепатит В спричиняється ДНК вірусом родини вірусів *hepadnaviridae*. Вірус гепатиту В (HBV) являє собою 3,2 kb ДНК вірус, реплікація якого відбувається винятково в клітинах печінки. У реплікації беруть участь два головних ферменти: ДНК полімераза та зворотна транскриптаза. Результати даного прикладу показують, що композиції срібла, що є предметом даного винаходу, перешкоджають реплікації як ДНК полімери, так і зворотної транскриптази. Результати цього приклада показують, що композиції срібла за даним винаходом можуть бути ефективними проти вірусу гепатиту В.

Більш того, коли гепатит В потрапляє до організму нового хазяїна, він інфікує печінку, якщо проходить повз імунну систему хазяїна. У процесі зараження вірус прикріплюється до мембрани клітини печінки, а ядерна частка проникає до клітини печінки. Потім ядерна частка вивільняє свій вміст ДНК та ДНК полімерази в ядро клітини печінки. Усередині клітини печінки вірус реплікується за допомогою процесів зворотної транскрипції і трансляції, який включає ферменти зворотну транскриптазу і ДНК полімеразу. ДНК полімераза змушує клітину печінки робити копії ДНК вірусу гепатиту В. Ці копії вірусу через мембрани клітин печінки потрапляють у кров'яне русло. З нього вони можуть заразити інші клітини печінки й у такий спосіб ефективно розмножитися. Інкубаційний період вірусу гепатиту В - приблизно 6-25 тижнів (тобто, час перш, ніж з'являться будь-які фізичні і загальні гістологічні або фізичні симптоми). Хоча, існує кілька біохімічних і гістологічних змін, що відбуваються на ранніх стадіях інфекції вірусу гепатиту В.

Б) Матеріали

Використовувалися розчини, що містять 10 ppm, 14 ppm, 22 ppm та 32 ppm композицій срібла, що є предметом даного винаходу. Нуклеотиди dATP, dGTP, dCTP та [³H]-dTTP отримали зі стандартних комерційних джерел, як і сполуки ламівудин (синтетичний антиретровірусний агент) і зідовудин (AZT). Ізольований вірус гепатиту В отримали від людини, інфікованої вірусом гепатиту В в інституті Haffner, Mumbai, Індія (який сертифікував аналітичну лабораторію). Випробувані клітинні культури (Vero і Hep2) були вирощені як злиті моношари звичайними методами клітинної культури.

С) Методи

1) Методика аналізу інгібування ДНК полімери

Загальний підхід. Вірусні екстракти гепатиту В людини інкубувалися з нуклеотидами з радіоактивною міткою й активним інгібітором. Відсоток інгібування був обчислений за кількістю de novo вірусної нуклеїнової кислоти, синтезованої відносно ламівудину, як позитивного контролю, і фос-

фатного буферного сольового розчину (PBS), як негативного контролю.

Специфічна методика. Ізольований вірус гепатиту В лізували для отримання вільного ферменту полімерази, що є вільним від домішок ферментів. Вірусний екстракт (25 мл) додали до реакційної суміші, що містить dATP, dGTP, dCTP та [³H] dTTP нуклеотиди (25 мл). Активний інгібітор (3 мл) додали до суміші, що містить вірусний екстракт і нуклеотиди. Утворену суміш ікубували при 37°C протягом 24 годин.

Окремий експеримент негативного контролю був виконаний з використанням фосфатного буферного сольового розчину (PBS, 3 мл) замість інгібітору (3 мл).

Окремий експеримент позитивного контролю був виконаний з використанням відомого інгібітору ДНК полімерази (3 мл ламівудину при концентрації 3 мг/мл) замість аналізованого інгібітору (3 мл).

Реакція була зупинена додаванням 25 мл EDTA і 25 мл TCA (трихлороцтова кислота). Потім реакційну суміш розігнали на іонному папері (папір DEAE). Папір промили три рази з TCA, а потім з етиловим спиртом. Фільтрувальний папір висушили на повітрі та помістили до сцинтиляційної ампули з сцинтиляційним коктейлем. Радіоактивність вимірювали рідинним сцинтиляційним лічильником (Blue Star). Для контролю підрахунку холосту пробу композиції срібла піддали повній методиці без вірусного завантаження, щоб перевірити потенційну інтерференцію в способі сцинтиляційного лічильника.

Опис даного методу в P. S. Venkateswaran, I. Millman, and B. S. Blumberg, "Effect of an extract from *Phyllanthus niruri* on hepatitis B and woodchuck hepatitis viruses: in vitro and in vivo studies," *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 1987, 84, 274-278 включено в даний опис посиланням.

2) Методика аналізу інгібування зворотної транскриптази

Використовувалося комерційний препарат вірусного ферменту транскриптази щурячого вірусу лейкемії Moloney (MoMuLV), що має Poly (A) dT (праймер для RT). 50 мл препарату MoMuLV змішали із сумішшю dATP, dGTP, dCTP та [³H]dTTP нуклеотидів.

Цю суміш об'єднали з 3 мл інгібітору, що аналізувався, а утворену суміш інкубували при 37°C протягом 24 годин.

Окремий експеримент негативного контролю був виконаний, з використанням фосфатного буферного сольового розчину (PBS, 3 мл) замість інгібітору.

Окремий експеримент позитивного контролю був виконаний, з використанням відомого інгібітору зворотної транскриптази (3 мл AZT при концентрації 0,625 мг/мл) замість аналізованого інгібітору.

Реакція була зупинена додаванням 25 мл EDTA і 25 мл TCA. Потім реакційну суміш розігнали на іонному папері (папір DEAE). Папір тричі промили з використанням TCA, а потім р етиловим спиртом. Фільтрувальний папір висушили на повітрі та помістили до сцинтиляційної ампули з сцинтиляційним коктейлем. Радіоактивність вимі-

рювали рідинним сцинтиляційним лічильником (Blue Star).

3) методика аналізу цитотоксичності

Клітини отримали від здорових, конфлюєнтних клітинних культур Vero і Hep2, що пересівали кожні 3-4 дні. За день до аналізу клітини вивільнили з культур за допомогою стандартних методів і суспендували в ростовому середовищі і розподілили в лунки мікротитрувального планшета та помістили в інкубатор з 5% CO₂ при 37°C. Аліквоту (100 мл) кожної аналізованої речовини ввели в лунку (в трьох повторностях) з 100 мл PBS для контролю. Кожні 24 години лунки були досліджені під світловим мікроскопом, що інвертує, для перевірки будь-якого цитопатичного ефекту (CPE). Усі результати приведені в таблиці 5

Д) Результати

Результати аналізів інгібування зворотної транскриптази

Таблиця 5а

Зразок	% Інгібування
Негативний контроль (PBS)	0
Позитивний контроль (AZT)	31,33
Срібло, 10 ppm	89,52
Срібло, 14 ppm і 1,5% H ₂ O ₂	86,93
Срібло, 22 ppm	84,46

Результати аналізів інгібування ДНК полімерази

Таблиця 5б

Зразок	% Інгібування
Негативний контроль (PBS)	0
Позитивний контроль (AZT)	31,33
Срібло, 10 ppm	77,73
Срібло, 14 ppm і 1,5% H ₂ O ₂	65,6
Срібло, 22 ppm	60,89

Композиції срібла, що є предметом даного винаходу, є високо ефективними при інгібуванні ДНК полімерази.

Результати аналізу інгібування транскриптази

Таблиця 5с

Зразок	% Інгібування
Негативний контроль (PBS)	0
Позитивний контроль (AZT)	18,06
Срібло, 10 ppm	89,52
Срібло, 14 ppm і 1,5% H ₂ O ₂	86,93
Срібло, 22 ppm	84,46

Таким чином, композиції срібла за даним винаходом інгібують зворотну транскриптазу. Припускають, що композиції срібла за даним винаходом будуть ефективні проти хвороб людини, викликаних вірусами, такими як вірус гепатиту В.

Результати аналізу цитотоксичності:

Таблиця 5d

Зразок	Vero	Hep2
контроль (PBS)	No CPE	No CPE
Срібло, 10 ppm	No CPE	No CPE
Срібло, 14 ppm з 1,5% H ₂ O ₂	CPE позитивний	CPE позитивний
Срібло, 22 ppm	No CPE	No CPE

Ці результати показують, що композиція срібла є головним чином не цитотоксичною. Передбачається, що перекис водню, що, як відомо, є цитотоксичним, показує цитотоксичні ефекти. Таким чином, срібло повинне бути безпечним для клітин при застосуванні *in vivo*.

12. Визначення ефективності композиції срібла як дезінфікуючого засобу води

А. Мета

Аналізи провели для демонстрації ефективності композиції за даним винаходом при дезінфекції питної води.

В. Способи

Зразок річкової сирієї води засіяли двома петлями *Klebsiella oxytoca*. 100 мл аліквоти цього засіяного водного розчину перенесли до 0,05 ppm, 0,1 ppm, 0,2 ppm, 0,5 ppm або 1,0 ppm композиції срібла, що заявляється. Після інкубації протягом 5-60 хвилин зразки профільтрували через мембранний фільтр. Фільтр ополіскували приблизно 100 мл стерильної води. Фільтри були вилучені в асептичних умовах і поміщені на коліформні чашки з живильним агаром. Чашки інкубували при умовах росту протягом 24 годин і підраховували.

Таблиця 6

Зразок	срібло (ppm)	Контакт (хв)	Загальна колі форма (на мл)	КЮ/100 мл
Неочищена вода	-		36	TNTC
1	1,00	5,0	0	0
2	1,00	10,0	0	0
3	1,00	15,0	0	0
4	1,00	30,0	0	0
5	0,50	10,0	0	0
6	0,50	30,0	0	0
7	0,50	60,0	0	0
8	0,20	5,00	0	0
9	0,20	10,0	0	0
10	0,20	30,0	0	0
11	0,20	60,0	0	0
12	0,10	10,0	0	0
13	0,05	20,0	0	0

TNTC = занадто великий для розрахунку.

Композиція срібла виявилася на подив ефективною. Навіть у самий короткий час (20 хв.), передбачений для інкубації досліджуваної найнижчої концентрації (0,05 ppm), цілком убиває бактерію. При 0,20 ppm і вище цілком убиває за 5 хвилин. Стає зрозуміло, що повне знищення займає менш 5 хвилин.

Визначення ефективності 32 ppm срібла як дезінфікуючого засобу поверхні

Правління охорони навколишнього середовища (EPA) схвалило 32 ppm композицію срібла за даним винаходом як дезінфікуючий засіб поверхні широкого спектра застосування в лікарнях, медичних установах, житлових будинках, комерційних будинках і офісах. Це було схвалено для застосування проти деяких із самих смертельно небезпечних патогенних мікроорганізмів, включаючи: грампозитивну бактерію, таку як *Staphylococcus aureus* (яка в даний час розглядається як сама смертельна бактерія в лікарнях США), грамнегативну бактерію, таку як *Salmonella choleraesuis* (що відповідає за харчове отруєння) і внутрішньолікарняні або придбані в лікарні патогенні мікроорганізми, такі як *Pseudomonas aeruginosa* (що часто виявляють в опіках і порізах).

Композиції срібла за даним винаходом можуть розпорошуватися усередині і навколо зайнятих областей без створення погрози для здоров'я або самопочуття людей або тварин. Можна дезінфікувати поверхні, вибрані з групи, що складається зі стін, столів, стільців, легких пристосувань, ванн, скла, посуду, металу, глазурованої кераміки, емальованої і пофарбованої, за допомогою розпилення або за допомогою протирання композицією срібла за даним винаходом. Переважний спосіб дезінфекції включає один або більш етапів очищення поверхні, яку будуть дезінфікувати, застосовується за допомогою розпилення, швабри, губки або тканини, композиція за даним винаходом цілком буде змочувати площу, що дезінфікують, дозволяючи поверхні залишатися вологою протягом, щонайменше, 10 хвилин

при температурі, щонайменше, 20°C (взаємозв'язок час/температура встановлена рівнянням Ареніуса або іншими засобами, відомими фахівцям даної області), і будуть витирати поверхню чистим папером або серветкою. Композиції для дезінфекції поверхонь включають ті, що містять від 5 до 40 ppm срібла. Переважна композиція за даним винаходом для дезінфекції поверхонь включає (32±3) ppm срібла. Інша переважна композиція за даним винаходом для дезінфекції поверхонь включає (10±2) ppm срібла. Інша переважна композиція за даним винаходом для дезінфекції поверхонь включає (22±2) ppm срібла.

Визначення ефективності композиції срібла як сверхдезінфікуючого засоба

А. Мета прикладу

Мета даного прикладу є виявлення протимікробної дії композиції срібла за даним винаходом (10 ppm срібла, 14 ppm срібла з 1,5 масовим відсотком пероксиду водню і 32 ppm срібла) проти аналізованого організму *Yersinia pestis*, етіологічного агента бубонної чуми. Виконуючи стандартний дослід залежності загибелі від часу за допомогою суспензії *Y. pestis*, показали, що композиції срібла за даним винаходом є ефективними навіть проти бактерії бубонної чуми.

В. Матеріал і способи

Y. pestis, штам D27 вирощували на чашці з колумбійським агаром протягом близько 24 годин при 30°C в інкубаторі з 5% CO₂. Зростаючу культуру перенесли з чашки в суспензію за допомогою 3 мл стерильної HPLC води. Суспензія була перенесена в 50 мл конічну центрифужну пробірку. Потім пластину промили, застосовуючи додатково 2 мл HPLC води. Даний засіб для промивання додали в центрифужну пробірку. Пробірку центрифугували при 3500 x g протягом 5 хвилин. Супернатант злили, а осад пересушували в 1 мл HPLC води для одержання останнього значення концентрації приблизно 10¹⁰ клітин на мл.

Спосіб, що включає наступні етапи:

Таблиця 8

1. 9,9 мл аликвоти аналізованої композиції срібла помістили в стерильну пробірку 20 мм на 150 мм. Пробірка була урівноважена у водянній ванні при 20°C.

2. Пробірку з композицією срібла інокулювали 100 мл аналізованої суспензії організму при часі 0 для одержання суміші. Пробірка негайно струхнули і повернули у водяну ванну.

3. Через 2 хвилини, 3 хвилини, 4 хвилин і 5 хвилин для 10 ppm або 32 ppm срібла або 2 хвилини, 4 хвилини, 6 хвилин і 8 хвилин для 14 ppm срібла з 1,5% в/в H₂O₂, 1 мл суміші організм/срібло перемістили до 99 мл нейтралізатора в 250 мл колбі Ейренмейєра. Колбу цілком перемішали.

4. Нейтралізовану суспензію негайно послідовно розбавили 1:10 у фізіологічному сольовому розчині (PSS).

5. Число життєздатних організмів у пробірках з вибраним розведенням і колбах піддали мембранній фільтрації. Один мл аликвоти помістили на чашки у двох повторностях. Мембрани промили приблизно 150 мл (або 250 мл, якщо зразок взяли з нейтралізаторної колби) стерильного сольового розчину, що містить фосфатний буфер, і помістили на чашки з колумбійським агаром. Весь вміст, що залишився, (98 мл) 4 і 5 хв. нейтралізаторних кобах також розмістили на чашки. Чашки інкубували при 30°C в інкубаторі з 5% CO₂ протягом 72 годин.

6. Підраховували число колоній на кожному фільтрі підраховували та розраховували логарифми зниження числа.

С. Результати

Результати для 10 ppm срібла приведені в таблиці 7.

Таблиця 7

Час	Log зниження числа	Процент вбитих
2 хв	2,63	99,77
4 хв	3,20	99,94
6 хв	3,46	99,97
8 хв	3,68	99,98

Розраховане рівняння регресії для цих даних є $Y=2,3965+0,1696x$. Це вказує, що час для зниження в 6 разів складає 21,2 хвилини.

Результати для 32 ppm срібла приведені в таблиці 8.

Час	Log зниження числа	Процент вбитих
2 хв	>7,61	99,999998
4 хв	>7,61	99,999998
6 хв	>7,61	99,999998
8 хв	>7,61	99,999998

Результати для 14 ppm срібла з 1,5% в/в H₂O₂ приведені в таблиці 9.

Таблиця 9

Час	Log зниження числа	Процент вбитих
2хв	3,27	99,95
3 хв	4,72	99,998
4 хв	5,36	99,9996
5 хв	6,47	99,99997

Розраховане рівняння регресії для цих даних є $Y=1,371+1,024x$. Це вказує, що час для зниження в 6 разів складає 4,52 хвилини.

Композиція срібла за даним винаходом виявляє істотну бактерицидну активність проти *Y. pestis*, етіологічного агента бубонної чуми. 32 ppm композиція дала більш ніж 7 логарифмів зниження числа (в основному, повне знищення) менш ніж за 2 хв. Дані показують, що 10 ppm срібла досягає 6 логарифмів зниження числа приблизно за 20 хвилин. Срібло та пероксид водню показують істотний синергізм із розрахованим 6 логарифмом зниження числа за 5 хвилин. Це набагато ефективніше, ніж 10 ppm срібла окремо. Вибрали рівень 14 ppm срібла, тому що дані інших експериментів припускають, що цей рівень срібла, комбінованого з пероксидом водню досяг би результатів, що наближаються до продукту 32 ppm срібла.

Короткий виклад даних

Наступна таблиця А містить короткий виклад вищеописаних результатів у вираженнях ефектів композиції срібла за даним винаходом для широкого ряду мікробів і хвороб людини. У деяких випадках дані, представлені в таблиці, не повторюються вище. Однак, результати одержали за допомогою методики, поясненої вище, тому фахівець даної галузі може швидко відтворити результати.

Хвороби людини і хвороботворні мікроорганізми, знищені композицією срібла, що заявляється

Таблиця А

Захворювання	Патоген	Ефективна концентрація
Остеомієліт	<i>Staphylococcus aureus</i>	Вбито 5 ppm
Бациллярна дизентерія	<i>Staphylococcus aureus</i>	Вбито 5 ppm
Інфекційні опіки	<i>Shigella boydii</i>	Вбито 2.5 ppm
Зубний наліт	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Вбито 5 ppm
Діарея (кров'яна)	<i>Streptococcus mutans</i>	Вбито 5 ppm
Діарея	<i>Shigella boydii</i>	Вбито 2.5 ppm
Інфекція вуха	<i>Escherichia coli</i>	Вбито 2.5 ppm
Інфекція вуха	<i>Haemophilus influenzae</i>	Вбито 1.25 ppm
Черевний тиф	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Вбито 2.5 ppm
Епіглотит	<i>Salmonella typhimurium</i>	Вбито 2.5 ppm
Інфекція ока	<i>Haemophilus influenzae</i>	Вбито 1.25 ppm
Corneal Ulcers-Keratitis	<i>Staphylococcus aureus</i>	Вбито 5 ppm
Харчове отруєння	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Вбито 5 ppm
Харчове отруєння	<i>Salmonella arizonae</i>	Вбито 5 ppm
Харчове отруєння	<i>Salmonella typhimurium</i>	Вбито 2.5 ppm
Ендокардит	<i>Escherichia coli</i>	Вбито 2.5 ppm
Ендокардит	<i>Streptococcus faecalis</i>	Вбито 2.5 ppm
Менінгіт	<i>Streptococcus gordonii</i>	Вбито 5 ppm
Менінгіт	<i>Haemophilus influenzae</i>	Вбито 1.25 ppm
Менінгіт	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Вбито 2.5 ppm
Менінгіт	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Вбито 5 ppm
Нозокоміальні Інфекції	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Вбито 2.5 ppm
Нозокоміальні Інфекції	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Вбито 2.5 ppm
Нозокоміальні Інфекції (з лікареней)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Вбито 5 ppm
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Вбито 1.25 ppm
Пневмонія	<i>Staphylococcus aureus</i>	Вбито 5 ppm
Пневмонія	<i>Haemophilus influenzae</i>	Вбито 1.25 ppm
Пневмонія	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Вбито 5 ppm
Пневмонія	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Вбито 2.5 ppm
Інфекції дихальних шляхів	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Вбито 1.25 ppm
Інфекції дихальних шляхів	<i>E. coli</i>	Вбито 2.5 ppm
Інфекції дихальних шляхів	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Вбито 2.5 ppm
Скарлатина	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Вбито 1.25 ppm
Сепсис	<i>Enterobacter aeropyogenes</i>	Вбито 2.5 ppm
Інфекції синуса	<i>Haemophilus influenzae</i>	Вбито 1.25 ppm
Синусит	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Вбито 2.5 ppm
Шкірні висипання	<i>Staphylococcus aureus</i>	Вбито 1.25 ppm
Інфекції шкіри	<i>Staphylococcus aureus</i>	Вбито 5 ppm
Інфекції шкіри	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Вбито 1.25 ppm
Гострий фаренгіт	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Вбито 1.25 ppm
Артрити	<i>Haemophilus influenzae</i>	Вбито 1.25 ppm
Інфекції горла	<i>Haemophilus influenzae</i>	Вбито 1.25 ppm
Гниття зубів	<i>Streptococcus mutans</i>	Вбито 5 ppm
Уретрит	<i>Trichomonas vaginalis</i>	Вбито 10 ppm
Інфекції сечових шляхів	<i>E. coli</i>	Вбито 2.5 ppm
Інфекції сечових шляхів	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Вбито 2.5 ppm
Інфекції сечових шляхів	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Вбито 5 ppm
Інфекції сечових шляхів	<i>Streptococcus faecalis</i>	Вбито 2.5 ppm
Інфекції сечових шляхів	<i>Enterobacter aeropyogenes</i>	Вбито 2.5 ppm
Вагініт	<i>Trichomonas vaginalis</i>	Вбито 10 ppm
Раневі інфекції	<i>Escherichia coli</i>	Вбито 2.5 ppm
Раневі інфекції	<i>Enterobacter aeropyogenes</i>	Вбито 2.5 ppm
Раневі інфекції	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Вбито 2.5 ppm
Раневі інфекції	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Вбито 5 ppm
Раневі інфекції	<i>Streptococcus faecalis</i>	Вбито 2.5 ppm
Дріжджеві інфекції	<i>Candida albicans</i>	Вбито 10 ppm

Ефективність колоїдного срібла, формульованого як гідрогель

При сучасному лікуванні ран визнають, що для оптимального загоєння рана повинна зберігатися стерильною і захищеною від висихання і забруднювачів навколишнього середовища. Ефективними є звичайні перев'язки як забезпечення захисту від забруднювачів навколишнього середовища, але в більшому ступені вони не ефективні при запобіганні висихання. Матеріали для перев'язки можуть мати протимікробну дію через додавання різних дезинфікуючих речовин, але ці речовини часто тверді і знищують клітини організму, а також мікроби. Нещодавно засоби лікування рани поповнилися матеріалами гідрогелю, що є доступними або як напівтвердий (аморфний матеріал) або як м'який шаруватий матеріал. Гідрогель є гідрофільним і, таким чином, попереджає висихання рани. Шаруватий матеріал є ефективним при виключенні забруднювачів навколишнього середовища, і через його гідрофільний характер гідрогель може фактично поглинати зайву рідину, виділену ранню.

Гідрогелі утворені комбінуванням гідрофільного полімеру з іншими інгредієнтами у водному розчині. Полімер утворює гель після зміни pH, температури або іншого підсилювального явища. У гелі дрібномолекулярна сітка полімеру оточує області водного розчину. Хоча композиція може бути аморфним напівтвердим або більш стійким шаруватим матеріалом, переважна більшість об'ємів має тенденцію до оточення водним розчином на противагу до гідрофільного полімеру. Гідрофільні полімери, що підходять для одержання гідрогелів, включаючи желатин, карбоксиметилцелюлозу (та інші похідні целюлози), інші вуглеводні полімери рослинного походження або з водорості, такі як альгінат, карагенан, ксантанова камедь, смола плодово-ріжкового дерева, трагакантова камедь, гуарова камедь, аравійська камедь і інші рослинні камеді, сополімери акрилової кислоти (такі як Карбопол) і комбінації цих і подібних гідрофільних полімерів.

Водний компонент переважно містить різні допоміжні речовини, що збільшують фізичні характеристики гідрогелю і/або підсилюють загоєння рани. Він включає різні вітаміни, амінокислоти і фактори росту, додані для посилення загоєння або зниження утворення шраму, знижуючи утворення рубців. Загальні анестезуючі засоби, такі як

новокаїн, лідокаїн та їх похідні також можуть бути включені як добавки для збільшення комфорту. Оскільки дотримання стерильності рани є головним призначенням пов'язки, включають різні протимікробні або дезинфікуючі агенти. Вони включають органічні кислоти, такі як лимонна кислота, розведена оцтова кислота, бензойна кислота, пропіонова кислота і молочна кислота. Спирти, такі як ізопропанол або етанол, застосовують як органічні дезинфікуючі засоби, включаючи хлористи фенольні смоли, такі як "TCP" (2,4,6-трихлорфенол), бігуаніди, хлоргексидін (коли змішаний з цетавлоном), хлоргексидін глюконат і хлоргексидін ацетат. Дезинфікуючі поверхнево-активні речовини, включаючи амфотерні поверхнево-активні речовини, та альдегіди, такі як формальдегід і глутаральдегід, можуть бути включені. Ефективні галогенні дезинфікуючі речовини, включаючи йод, йодофори і йод-полівідон, а також пероксиди та інші оксигенатори, такі як пероксид водню. Інші корисні інгредієнти включають алюмінієво-цинкові в'язкі агенти, похідні фурану і похідні хіноліну, такі як кліохінол. Вигідні як усі ці протимікробні агенти, усі вони мають тенденцію ушкоджувати тканину та/або мікроби можуть швидко розвинути до них стійкість.

Як показано вище, колоїдне срібло за даним винаходом є дуже ефективним антибактеріальним препаратом, воно дуже ніжне до тканини людини та ефективне проти стійких мікробів. І аморфний гель, і пластинчастий гідрогель повинні створювати ефективні рівні колоїдного срібла у вологому виліковному середовищі. З однієї сторони аморфний гідрогель повільно вивільняє колоїдне срібло, оскільки він повільно зм'якшує екссудат в тканині і поступово починає розпадатися. З іншої сторони аморфний гідрогель передає вологу тканині та одночасно робить колоїдне срібло доступним на ділянці. До того ж, невелика кількість колоїдного срібла, що знаходиться в пов'язці, переважно є молекулярним сріблом, чие поступове відновлення протягом тривалого часу вивільняє іони срібла, що мають відмінну олігодинамічну активність.

Після початкових експериментів Карбопол вибрали як ефективний агент, що утворює гідрогель, для застосування з колоїдним сріблом за даним винаходом. Була розроблена базова формуляція, що звичайно включає наступні інгредієнти, як представлено в таблиці 9а.

Таблиця 9а

Інгредієнт	Функція	Постачальник
Розчин колоїдного срібла (22 ppm або 32 ppm)	Дієвий, протимікробний, і розріджувач	American Biotech Labs
Карбопол ETD2020	Модифікатор реології	Noveon
Триетаноламін	нейтралізатор, змочуюча оечовина	E. Merck
Пропіленгліколь	Зволожувач	E. Merck

Усі неочищені матеріали були спочатку проаналізовані на:

1. Протибактеріальну активність;
2. Фізичні і хімічні властивості:
1. Зовнішній вигляд,

2. Запах,
3. pH,
4. Консистенція,
5. Щільність,
6. Пеноутворюючу властивість,

7. Здатність до плинності.

Розчин колоїдного срібла (22 ppm або 32 ppm):

У цій формуляції розчин срібла застосовується як активний компонент (протимікробний агент). Він також єдиний розріджувач у цій специфічній формуляції.

А. Протибактеріальна активність:

Культура	Діаметр зони інгібування	
	22 ppm	32 ppm
MRSA	17 mm	18 mm
E. coli	14mm	NA
Ps. aeruginosa	21 mm	22 mm

В. Фізичні і хімічні властивості:

Зовнішній вигляд	Чиста рідина без кольору
Запах	Без запаху
pH	5,0
Консистенція на дотик	Не спостерігається
Густина	1,0
Свойство ценообразования	Не спостерігається
Здатність до плинності	Не спостерігається

Карбопол

Карбопол відомий під хімічною назвою карбоксиполіметилен або карбоксивініловий полімер. Це сополімер акрилової кислоти і є високо-іонним (наприклад, гідрофільним) і незначно кислотною сполукою. Полімери Карбопола повинні бути нейтралізовані для досягнення максимальної в'язкості. Це застосовується у фармацевтичних, косметичних галузях та галузях друкування на тканинах як агент ущільнення, суспендування, диспергування та емульгування. В даній формуляції Карбопол застосовується як гелеутворюючий агент, що ущільнює.

А. Протибактеріальна активність Не застосовна

В. Фізичні і хімічні властивості:

Зовнішній вигляд	Сухий білий порошок
Запах	Без запаху
pH	Не спостерігається
Консистенція на дотик	Не спостерігається
Густина	Не спостерігається
Свойство пенообразования	Не спостерігається
Здатність до плинності	Не спостерігається

Тріетаноламін

(TEA) $C_6H_{15}NO_3$ (Мол. маса: 149,19)

В цій формуляції тріетаноламін, агент підключування, нейтралізує Карбопол, що б підняти в'язкість. Він також збільшує силу проникнення активного агента.

А. Протибактеріальна активність (Не застосовна)

В. Фізичні і хімічні властивості

Зовнішній вигляд	Густа рідина без кольору
Запах	Слабкий аміачний

pH	Не спостерігається
Консистенція на дотик	Не спостерігається
Густина	1,1242г/см ³
Здатність піноутворення	Не спостерігається
Здатність до плинності	Не спостерігається

Пропіленгліколь

$C_3H_8O_2$ Мол. маса: 76,09

Пропіленгліколь хімічно відомий як 1:2 пропандіол. В даній формуляції він застосовується як змочувальний засіб і модифікатор консистенції.

А. Протибактеріальна активність Не застосовна

В. Фізичні і хімічні властивості:

Зовнішній вигляд	Густа рідина без кольору
Запах	Без запаху
pH	Не спостерігається
Консистенція на дотик	Не спостерігається
Густина	1,036 г/см ³
Здатність піноутворення	Не спостерігається
Здатність до плинності	Не спостерігається

Як тільки стандартна формула була розроблена, виготовили ряд партій для дослідження можливих діапазонів формуляцій. З 19 проведених експериментів отримали наступні спостереження.

1. Підвищення pH збільшує в'язкість гелю.
2. Збільшення кількості Карбополу збільшує в'язкість гелю.
3. Високий процентний вміст Карбополу збільшує клейкість.

За вищеписаними експериментами можна прийти до висновку, що оптимальне співвідношення повинно бути досягне між застосованою кількістю Карбополу і TEA, а отримане кінцеве значення pH повинне бути не більш ніж 8,5. Отже, формуляцію № 18 вибрали як стандарт, а партію розмножили до 10 кг.

Проведення досліджень по розробці продукту Гелеві формуляції на основі Карбополу повинні бути стандартизованими відносно pH, властивості напоямацки, клейкості і консистенції. Для цього взяли різні пробні партії за допомогою води як водної фази для одержання продукту придатної якості і консистенції перед добором головної партії.

Партія No. SG/001 Формуляція:

Партія № SG/001 Формуляція

Частина А	Дистильована вода	83,50 г
	Карбопол	00,62 г
	NaOH 18%	00,60 г
Частина В	Дистильована вода	1,00 г
	Пропіленгліколь	5,00 г
	NaOH 18%	1,50 г

методика: Відміряють дану кількість дистильованої води з частини А і тримають на водяній бані при 70°C. До дистильованої води додають

Карбопол при постійному перемішуванні, уникаючи згустків. Додають до нього 18% NaOH при 70°C через 20 хвилин. Зважують всі інгредієнти з частини В і тримають на водяній бані при 70°C протягом 15-20 хвилин. Додають частину В до частини А і перемішують це протягом 10-15 хвилин. Охолоджують до кімнатної температури та аналізують.

Результати:

РН	10,8
Плинність при 90°C	>5 хв
Плинність при 45°C	>5 хв
В'язкість	Дуже в'язкий

Партія № SG/002 Формуляція

Частина А	Дистильована вода	83,50 г
	Карбопол	00,62 г
	ТЕА	01,20 г
Частина В	Дистильована вода	1,00 г
	Пропіленгліколь	5,00 г
	ТЕА	1,50 г

Методика: Відміряють дану кількість дистильованої води з частини А і тримають на водяній бані при 70°C. До дистильованої води додають Карбопол при постійному перемішуванні, уникаючи згустків. Додають ТЕА при 70°C через 20 хвилин. Зважують всі інгредієнти з частини В і тримають на водяній бані при 70°C протягом 15-20 хвилин. Додають частину В до частини А і перемішують протягом 10-15 хвилин. Охолоджують до кімнатної температури й аналізують.

Результати

РН	7,9(SOP-08)
Плинність при 90°C	>5 хв
Плинність при 45°C	>5 хв
В'язкість	Дуже в'язкий

Партія № SG/003 Формуляція

Частина А	Дистильована вода	86,00 г
	Карбопол	00,62 г
	ТЕА	01,20 г
Частина В	Дистильована вода	2,00 г
	Пропіленгліколь	5,00 г
	ТЕА	1,50 г

Методика: Відміряють дану кількість дистильованої води з частини А і тримають на водяній бані при 70°C. До дистильованої води додають Карбопол при постійному перемішуванні, уникаючи згустків. Додають ТЕА при 70°C через 20 хвилин. Зважують всі інгредієнти з частини В і тримають на водяній бані при 70°C протягом 15-20 хвилин. Додають частину В до частини А і перемішують протягом 10-15 хвилин. Охолоджують до кімнатної температури й аналізують.

Результати

РН	8,62
Плинність при 90°C	>5 хв

Плинність при 45°C	>5 хв
В'язкість	Дуже в'язкий

Партія №. SG/004 Формуляція

Частина А	Дистильована вода	86,00 г
	Карбопол	00,62 г
	ТЕА	01,00 г
Частина В	Дистильована вода	2,00 г
	Пропіленгліколь	5,00 г
	ТЕА	1,50 г

Методика: Відміряють дану кількість дистильованої води з частини А і тримають на водяній бані при 70°C. До дистильованої води додають Карбопол при постійному перемішуванні, уникаючи згустків. Додають ТЕА при 70°C через 20 хвилин. Зважують всі інгредієнти з частини В і тримають на водяній бані при 70°C протягом 15-20 хвилин. Додають частину В до частини А і перемішують протягом 10-15 хвилин. Охолоджують до кімнатної температури й аналізують.

Результати

РН	8,5
Плинність при 90°C	>5 хв
Плинність при 45°C	>5 хв
В'язкість	Дуже в'язкий

Партія № SG/005 Формуляція

Частина А	Дистильована вода	86,00 г
	Карбопол	0,62 г
	ТЕА	01,00 г
Частина В	Дистильована вода	2,00 г
	Пропіленгліколь	7,00 г
	ТЕА	1,50 г

Методика: Відміряють дану кількість дистильованої води з частини А і тримають на водяній бані при 70°C. До дистильованої води додають Карбопол при постійному перемішуванні, уникаючи згустків. Додають ТЕА при 70°C через 20 хвилин. Зважують всі інгредієнти з частини В і тримають на водяній бані при 70°C протягом 15-20 хвилин. Додають частину В до частини А і перемішують протягом 10-15 хвилин. Охолоджують до кімнатної температури й аналізують.

Результати

РН	8,7
Плинність при 90°C	>5 хв
Плинність при 45°C	>5 хв
В'язкість	Дуже в'язкий

Партія № SG/006 Формуляція

Частина А	Дистильована вода	85,00 г
	Карбопол	0,62 г
	ТЕА	01,00 г
Частина В	Дистильована вода	1,00 г
	Пропіленгліколь	5,00 г
	ТЕА	1,40 г

Відміряють дана кількість дистильованої води з частини А і тримають на водяній бані при 70°C. До дистильованої води додають Карбопол при постійному перемішуванні, уникаючи згустків. Додають ТЕА при 70°C через 20 хвилин. Зважують всі інгредієнти з частини В і тримають на водяній бані при 70°C протягом 15-20 хвилин. Додають частину В до частини А і перемішують протягом 10-15 хвилин. Охолоджують до кімнатної температури й аналізують.

Результати

РН	8,4
Плинність при 90°C	>5 хв
Плинність при 45°C	>5 хв
В'язкість	Дуже в'язкий

Партія № SG/007 Формуляція

Частина А	Дистильована вода	172 г
	Карбопол	1,24 г
	ТЕА	2,4 г
Частина В	Дистильована вода	6,0 г
	Пропіленгліколь	10 г
	ТЕА	2,8 г

Методика: Відміряють дану кількість дистильованої води з частини А і тримають на водяній бані при 70°C. До дистильованої води додають Карбопол при постійному перемішуванні, уникаючи згустків. Додають ТЕА при 70°C через 20 хвилин. Зважують всі інгредієнти з частини В і тримають на водяній бані при 70°C протягом 15-20 хвилин. Додають частину В до частини А і перемішують протягом 10-15 хвилин. Охолоджують до кімнатної температури й аналізують.

Результати

РН	8,28
Плинність при 90°C	>5 хв
Плинність при 45°C	>5 хв
В'язкість	Дуже в'язкий

Партія № SG/008 Формуляція

Частина А	Розчин срібла (32 ppm)	86 г
	Карбопол	0,62 г
	ТЕА	1,2 г
Частина В	Розчин срібла (32 ppm)	2,0 г
	Пропіленгліколь	5,0 г
	ТЕА	1,5 г

Методика: Відміряють дану кількість дистильованої води з частини А і тримають на водяній бані при 70°C. До дистильованої води додають Карбопол при постійному перемішуванні, уникаючи згустків. Додають ТЕА при 70°C через 20 хвилин. Зважують всі інгредієнти з частини В і тримають на водяній бані при 70°C протягом 15-20 хвилин. Додають частину В до частини А і перемішують протягом 10-15 хвилин. Охолоджують до кімнатної температури й аналізують.

Результати

РН	8,65
Плинність при 90°C	>5 хв
Плинність при 45°C	>5 хв
В'язкість	Дуже в'язкий

Партія № SG/009 Формуляція

Частина А	Розчин срібла (32 ppm)	172 г
	Дистильована вода	12
	Карбопол	1,24 г
	ТЕА	2,4 г
Частина В	Розчин срібла (32 ppm)	6,0 г
	Пропіленгліколь	10,0 г
	ТЕА	2,8 г

Методика: Зважують дану кількість розчину срібла з частини А і тримають на водяній бані при 70°C. До розчину срібла додають Карбопол Карбопол при постійному перемішуванні, уникаючи згустків. Додають ТЕА при 70°C через 20 хвилин. Зважують всі інгредієнти з частини В і тримають на водяній бані при 70°C протягом 15-20 хвилин. Додають частину В до частини А і перемішують протягом 10-15 хвилин. Охолоджують до кімнатної температури й аналізують.

Результати

РН	8,54
Плинність при 90°C	>5 хв
Плинність при 45°C	>5 хв
В'язкість	Дуже в'язкий

Партія № SG/010 Формуляція

Частина А	Розчин срібла (32 ppm)	172 г
	Дистильована вода	24
	Карбопол	1,39 г
	ТЕА	2,4 г
Частина В	Розчин срібла (32 ppm)	6,0 г
	Пропіленгліколь	5,0 г
	ТЕА	2,8 г

Методика: Зважують дану кількість розчину срібла з частини А і тримають на водяній бані при 70°C. До розчину срібла додають Карбопол Карбопол при постійному перемішуванні, уникаючи згустків. Додають ТЕА при 70°C через 20 хвилин. Зважують всі інгредієнти з частини В і тримають на водяній бані при 70°C протягом 15-20 хвилин. Додають частину В до частини А і перемішують протягом 10-15 хвилин. Охолоджують до кімнатної температури й аналізують.

Результати

РН	8,43
Плинність при 90°C	>5 хв
Плинність при 45°C	>5 хв
В'язкість	Вязкий

Партія № SG/011 Формуляція

Частина А	Дистильована вода	98 г
	Карбопол	0,76 г
	TEA	0,56 г
Частина В	Дистильована вода	3,0 г
	Пропіленгліколь	5,0 г
	TEA	1,4 г

Методика: Відміряють дану кількість дистильованої води з частини А і тримають на водяній бані при 70°C. До дистильованої води додають Карбопол при постійному перемішуванні, уникаючи згустків. Додають TEA при 70°C через 20 хвилин. Зважують всі інгредієнти з частини В і тримають на водяній бані при 70°C протягом 15-20 хвилин. Додають частину В до частини А і перемішують протягом 10-15 хвилин. Охолоджують до кімнатної температури й аналізують.

Результати

РН	8,05
Плинність при 90°C	>5хв
Плинність при 45°C	>5хв
В'язкість	Дуже в'язкий

Партія № SG1012 Формуляція

Частина А	Дистильована вода	98 г
	Карбопол	0,76 г
	TEA	0,34 г
Частина В	Дистильована вода	3,0 г
	Пропіленгліколь	5,0 г
	TEA	0,64 г

Методика: Відміряють дану кількість дистильованої води з частини А і тримають на водяній бані при 70°C. До дистильованої води додають Карбопол при постійному перемішуванні, уникаючи згустків. Додають TEA при 70°C через 20 хвилин. Зважують всі інгредієнти з частини В і тримають на водяній бані при 70°C протягом 15-20 хвилин. Додають частину В до частини А і перемішують протягом 10-15 хвилин. Охолоджують до кімнатної температури й аналізують.

Результати

РН	6,35
Плинність при 90°C	>5 хв
Плинність при 45°C	>5 хв
В'язкість	Дуже в'язкий

Партія № SG/013 Формуляція

Частина А	Розчин срібла (32 ppm)	86 г
	Дистильована вода	12 г
	Карбопол	0,76 г
	TEA	0,32 г
Частина В	Розчин срібла (32 ppm)	3,0 г
	Пропіленгліколь	5,0 г
	TEA	0,64 г

Методика: Зважують дану кількість розчину срібла і дистильованої води з частини А тримають на водяній бані при 70°C. Додають Карбопол до розчину при постійному перемішуванні, уникаючи згустків. Додають TEA при 70°C через 20 хвилин. Зважують всі інгредієнти з частини В і тримають на водяній бані при 70°C протягом 15-20 хвилин. Додають частину В до частини А і перемішують протягом 10-15 хвилин. Охолоджують до кімнатної температури й аналізують.

Результати

РН	6,7
Плинність при 90°C	>5 хв
Плинність при 45°C	>5 хв
В'язкість	Дуже в'язкий

Партія № SG/014 Формуляція

Частина А	Розчин срібла (32 ppm)	86 г
	Дистильована вода	12 г
	Карбопол	0,78 г
	TEA	0,32 г
Частина В	Розчин срібла (32 ppm)	3,0 г
	Пропіленгліколь	5,0 г
	TEA	0,64 г

Методика: Зважують дану кількість розчину срібла і дистильованої води з частини А тримають на водяній бані при 70°C. Додають Карбопол до розчину при постійному перемішуванні, уникаючи згустків. Додають TEA при 70°C через 20 хвилин. Зважують всі інгредієнти з частини В і тримають на водяній бані при 70°C протягом 15-20 хвилин. Додають частину В до частини А і перемішують протягом 10-15 хвилин. Охолоджують до кімнатної температури й аналізують.

Результати

РН	6,6
Плинність при 90°C	>5 хв
Плинність при 45°C	>5 хв
В'язкість	Дуже в'язкий

Партія № SG/015 Формуляція

Частина А	Розчин срібла (32 ppm)	86 г
	Дистильована вода	12 г
	Карбопол	0,68 г
	TEA	0,4 г
Частина В	Розчин срібла (32 ppm)	5,0 г
	Пропіленгліколь	7,0 г
	TEA	0,6 г

Методика: Зважують дану кількість розчину срібла і дистильованої води з частини А тримають на водяній бані при 70°C. Додають Карбопол до розчину при постійному перемішуванні, уникаючи згустків. Додають TEA при 70°C через 20 хвилин. Зважують всі інгредієнти з частини В і тримають на водяній бані при 70°C протягом 15-20 хвилин. Додають частину В до частини А і перемішують протягом 10-15 хвилин. Охолоджують до кімнатної температури й аналізують.

Результати

РН	6,72
Плинність при 90°C	>5 хв
Плинність при 45°C	>5 хв
В'язкість	Дуже в'язкий

Партія № SG/016 Формуляція

Частина А	Розчин срібла (32 ppm)	86 г
	Дистильована вода	12 г
	Карбопол	0,64 г
	ТЕА	0,4 г
Частина В	Розчин срібла (32 ppm)	5,0 г
	Пропіленгліколь	7,0 г
	ТЕА	0,6 г

Методика: Зважують дану кількість розчину срібла і дистильованої води з частини А тримають на водяній бані при 70°C. Додають Карбопол до розчину при постійному перемішуванні, уникаючи згустків. Додають ТЕА при 70°C через 20 хвилин. Зважують всі інгредієнти з частини В і тримають на водяній бані при 70°C протягом 15-20 хвилин. Додають частину В до частини А і перемішують протягом 10-15 хвилин. Охолоджують до кімнатної температури й аналізують.

Результати

РН	6,87
Плинність при 90°C	>5 хв
Плинність при 45°C	>5 хв
В'язкість	Дуже в'язкий

Партія № SG/017 Формуляція

Частина А	Розчин срібла (32 ppm)	86 г
	Дистильована вода	12 г
	Карбопол	0,62 г
	ТЕА	0,4 г
Частина В	Розчин срібла (32 ppm)	5,0 г
	Пропіленгліколь	7,0 г
	ТЕА	0,6 г

Методика: Зважують дану кількість розчину срібла і дистильованої води з частини А тримають на водяній бані при 70°C. Додають Карбопол до розчину при постійному перемішуванні, уникаючи згустків. Додають ТЕА при 70°C через 20 хвилин. Зважують всі інгредієнти з частини В і тримають на водяній бані при 70°C протягом 15-20 хвилин. Додають частину В до частини А і перемішують протягом 10-15 хвилин. Охолоджують до кімнатної температури й аналізують.

Результати

РН	7,05
Плинність при 90°C	>5 хв
Плинність при 45°C	>5 хв
В'язкість	Дуже в'язкий

Партія № SG/018 Формуляція

Частина А	Розчин срібла (32 ppm)	86 г
-----------	------------------------	------

Частина В	Дистильована вода	12 г
	Карбопол	0,58 г
	ТЕА	0,4 г
	Розчин срібла (32 ppm)	5,0 г
	Пропіленгліколь	7,0 г
	ТЕА	0,6 г

Методика: Зважують дану кількість розчину срібла і дистильованої води з частини А тримають на водяній бані при 70°C. Додають Карбопол до розчину при постійному перемішуванні, уникаючи згустків. Додають ТЕА при 70°C через 20 хвилин. Зважують всі інгредієнти з частини В і тримають на водяній бані при 70°C протягом 15-20 хвилин. Додають частину В до частини А і перемішують протягом 10-15 хвилин. Охолоджують до кімнатної температури й аналізують.

Результати

РН	7,40
Плинність при 90°C	>5 хв
Плинність при 45°C	>5 хв
В'язкість	Липкий

Партія № SG/019 Формуляція

Частина А	Розчин срібла (32 ppm)	86 г
	Дистильована вода	12 г
	Карбопол	0,54 г
	ТЕА	0,4 г
Частина В	Розчин срібла (32 ppm)	5,0 г
	Пропіленгліколь	7,0 г
	ТЕА	0,6 г

Методика: Зважують дану кількість розчину срібла і дистильованої води з частини А тримають на водяній бані при 70°C. Додають Карбопол до розчину при постійному перемішуванні, уникаючи згустків. Додають ТЕА при 70°C через 20 хвилин. Зважують всі інгредієнти з частини В і тримають на водяній бані при 70°C протягом 15-20 хвилин. Додають частину В до частини А і перемішують протягом 10-15 хвилин. Охолоджують до кімнатної температури й аналізують.

Результати

РН	7,65
Плинність при 90°C	>5 хв
Плинність при 45°C	>2 хв
В'язкість	Липкий

Примітка: Хоча якість гелю при дотику покращилася, консистенція є непридатною.

Ґрунтуючись на вищевказаних результатах, були розроблені наступні інструкції для одного кілограма партії.

Частина А	Розчин срібла (32 ppm)	860 мг
	Дистильована вода	100 мг
	Карбопол	5,8 мг
	ТЕА	4,0 мг
Частина В	Розчин срібла (32 ppm)	50 мг
	Пропіленгліколь	70 мг
	ТЕА	60 мг

Вихід 1,0 кг після виправлення на втрату води.

Методика: У чисту стерилізовану судину внесли необхідну кількість дистильованої води і розчину срібла. Підняли температуру розчину до 70°C при безупинному перемішуванні. Починають додавання Карбополу через хвилину при безупинному перемішуванні/гомогенізації. Після додавання усього Карбополу перемішування продовжують протягом 30 хвилин. (Підібрали час відповідно до розміру партії). Потім додали TEA у розчин фази А.

В окремі судини змішують всі інгредієнти частини В. Піднімають температуру до 70°C і повільно додають частину В до частини А. При повній гомогенізації охолоджують суміш до кімнатної температури.

Застереження: Дисперсія Карбополу повинна бути зроблена за допомогою придатного гомогенізатора.

Візьміть невелику дослідну партію, коли використовуєте нову кількість Карбополу. Мінімізуйте час нагрівання, тому що тривале нагрівання приводить до більшої втрати води.

Результати

рН	7,4
Плинність	>5 хв
В'язкість	Липкий

Ця формуляція була легко розсіяна до 10 кг на експериментальній установці. При розсіванні не зіштовхувалися ні з якими проблемами. Деаерація за допомогою вакууму рекомендована для видалення захопленого повітря і гарантує однорідне заповнення.

Ця формуляція має наступні фізичні і хімічні характеристики, представлені в таблиці 10.

Таблиця 10

	Аналіз	Специфікація	Результати
1	Зовнішній вигляд	Золотисто-жовтий прозорий гель	Проходить
2	Запах	Без запаху	Без запаху
3	Специфічна густина	1,02	1,02
4	Плинність	При 45° і 90° більш, ніж за 5 хв проходить дюйм від початку	При 45° і 90° більш, ніж за 5 хв проходить дюйм від початку
5	Об'єм піни	<10мл	<10мл
6	Консистенція/плинність	1-липка	1-липка
7	В'язкість RT 30°	32,000±5000	34,000
	В'язкість RT 370	30,000 ±5000	33,500
8	рН	Від 6,5 до 8,0	7,4
9	Замерзання і таяння	Проходить SOP 1-10	У порівнянні з джерелом
10	Оптимальна довжина хвилі (X _{Max})	22 ppm-400±20nm 32 ppm-450±20nm	400 нм** 450 нм**
11	Вплив світла	Знабарвлення відсутнє	Проходить
12	Сумісність	Знебарвлення продукту відсутнє при реакції з об'єктами	Табл. 3
13	Втрата води		10,27%
14	Поглинання води		80%

Мікробіологічна оцінка

Доцільно припустити, що гідрогель колоїдно-го срібла має мікробіологічні властивості, подібні до оригінального колоїду срібла, що був ретельно проаналізований, як показано вище. Проте, додавання гідрофільного полімеру для одержання гелю могло б безпосередньо зіштовхнутися з мікробними властивостями срібла або могло б так пригнічити дифузію срібла, що ефективність зменшилася б. Таким чином, мікробіологічні аналізи, подібні тим, що проводилися з колоїдним розчином срібла, були також виконані з гідрогелем колоїдного срібла.

Спочатку гідрогель аналізували для визначення самостерилізації композиції. Далі наведено протокол:

У колбах на 100 мл стерильного рідкого тіогліколевого середовища (анаеробні бактерії), стерильного живильного соя-казеїн-гідралізат середовища (аеробні бактерії) і картопляно-декстрозного бульйону (гриби) одержали зразки, близько 100 мг гелю асептично перенесли в ряди

колб. Один ряд інкубували при 37°C, а інший ряд інкубували при кімнатній температурі протягом одного тижня. Після закінчення цього часу колби перевірили і не знайшли ніякої мутності або ознак росту мікробів. Оскільки зразок гелю не був виготовлений при стерильних умовах, можна зробити висновок, що композиція самостерилізується. 100 мг гелю застосовували для кожного аналізу. Це відповідає 2,2 мкг у 100 мл середовища або 0,02214 або 0,032 мкг срібла на мл середовища. При такій концентрації срібло не мало б протимікробної дії і, отже, могло б бути усунути помилкові негативні результати.

Ряд аналізованих організмів потім застосовували для порівняння зони інгібування, досягнутої або з 22, або з 32 ppm розчину срібла, або з 22 або з 32 ppm гелю срібла, отриманого, як описано вище і як представлено в таблиці 11. Аліквоти по 0,1 мл або активно зростаючих 18 часових культур кожного мікроорганізму (приблизно 10⁸ КУО/мл) засіяли на стерильні чашки з живильним агаром. На кожній інокульованій чашці зробили

лунки діаметром 10 мм корковим свердлом. Аналізований (0/2-0,3 г) продукт помістили в кожну лунку, і чашки інкубували протягом 24 годин. Після

закінчення цього часу чашки перевірили і заміряли наступні зони інгібування (повний діаметр кожної зони).

Таблиця 11

Культура	Розчин срібла		Гель срібла	
	22 ppm	32 ppm	22 ppm	32 ppm
E. coli	14 мм	14 мм	12 мм	13 мм
Ps. Aeruginosa	21 мм	22 мм	21 мм	20 мм
B. subtilis	15 мм	16 мм	14 мм	14 мм
MRSA1	17 мм	18 мм	16 мм	17 мм
MRSA2	16 мм	17 мм	16 мм	17 мм
S. aureus ATCC	14 мм	14,5 мм	15 мм	15 мм
S. pyogenes	16 мм	18 мм	16 мм	18 мм
S. typhi	17 мм	16 мм	16 мм	16 мм
Sh. flexneri	20 мм	21 мм	20 мм	21 мм
K. pneumoniae	17 мм	18 мм	18 мм	18 мм
C. diphtheriae	16 мм	18 мм	16 мм	17 мм
C. albicans	39 мм	40 мм	39 мм	40 мм

Ці результати показують, що інгібіторні ефекти гелю є переважно еквівалентними ефектам колоїдного розчину срібла. Це показує, що гелеутворюючий полімер не впливає негативно на протимікробні властивості колоїдного срібла. Деякі культури (S. pyogenes, C. diphtheriae і S. aureus) були також культивовані на кров'яному агарі. Результати свідчать, що гель срібла також буде ефективний при рані, що кровоточить.

Подібні аналізи проводилися з деякими бактеріальними штамами за допомогою різних антибіотичних агентів. У деяких випадках антибіотики були більш ефективними, чим сполуки срібла, в інші вони були набагато менш ефективні. Це показує, що використовувані штами не були ослабленими або "пригніченими" штамами (див. таблиці 12a та 12b).

Таблиця 12a

Грамположитивні бактерії

Антибіотик	Конц.	S. aureus	MRSA1	MRSA2	B. subtilis
Ампіцилін	200 мкг	чистий	15 мм	18 мм	16 мм
Цефотаксим	30 мкг	26 мм	Нема інгібування	чистий	12 мм
Цефалексин	30 мкг	Чистий	1,0 мм	0,8 мм	Чистий
Ципрофлоксацин	5 мкг	28 мм	14 мм	14 мм	20 мм
Клоксацилін	1 мкг	Чистий	Чистий	13 мм	18 мм
Ко-тримоксазол	25 мкг	Чистий	Нема інгібування	Нема інгібування	15 мм
Гентаміцин	10 мкг	Чистий	Нема інгібування	11 мм	18 мм
Линкоміцин	2 мкг	Чистий	Чистий	Чистий	18 мм
Офлоксацин	5 мкг	Чистий	15 мм	16 мм	22 мм
Перлофлоксацин	10 мкг	30 мм	11 мм	13 мм	21 мм
Рокситроміцин	5 мкг	Чистий	1,0 мм	12 мм	20 мм
Тетрациклін	30 мкг	34 мм	Нема інгібування	0,7 мм	19 мм

Таблиця 12b

Грамнегативні бактерії

Антибіотики	Конц.	E. coli	K. pneumoniae	S. typhi	Ps. aeruginosa
1	2	3	4	5	6
Амикацин	30 мкг	Чистий	18 мм	Чистий	10 мм
Ампицилін	200 мкг	23 мм	18 мм	20 мм	13 мм
Цефотаксим	30 мкг	21 мм	20 мм	22 мм	19 мм
Цефтизоксим	30 мкг	18 мм	18 мм	15 мм	Нема інгібування
Хлорамфенікол	30 мкг	22 мм	21 мм	23 мм	Нема інгібування
Ципрофлоксацин	5 мкг	29 мм	22 мм	25 мм	15 мм
Котримоксазол	25 мкг	24 мм	19 мм	27 мм	Чистий
Гентаміцин	10 мкг	Чистий	17 мм	Чистий	Зема інгібування

1	2	3	4	5	6
Офлоксацин	5 мкг	Чистий	29 мм	чистий	15 мм
Пефлоксацин	10 мкг	Чистий	25 мм	чистий	10 мм
Піперацилін	100 мкг	22 мм	5 мм	6 мм	10 мм
Тетрациклін	30 мкг	9 мм	8 мм	6 мм	Нема інгібування

Аналіз скрабу для рук

Оскільки гідрогель має здатність підвищувати адгезію срібла до поверхонь шкіри, оцінювалася ефективність гелю як скрабу для рук. Для цього аналізу позначили площу в один дюйм на руці добровольця, а потім втерли близько 1 г гелю. Контрольна площа була очищена зі стерильною дистильованою водою. Площі були промиті, а змиви висіяли на живильний агар. Змиви повторювали щогодини протягом чотирьох годин. Засіяні чашки інкубували протягом 24 годин при 37°C, а результати оцінили.

Як показано в наступній таблиці 13, на контрольних посівах бактерій було занадто багато для підрахунку (TNTC). Площі, оброблені гелем срібла, зберігалися істотно стерильними протягом трьох годин і показали тільки слабкий ріст протягом чотирьох годин. Це повинно забезпечити високі результати медичної допомоги працівникам, яким потрібно знезаразити поверхню своїх рук без застосування грубих або сполук, що зрештою.

Таблиця 13

Час	Контроль	22 ppm	32 ppm
0 год.	TNTC	Нема зростання	Нема зростання
1 год.	TNTC	Нема зростання	Нема зростання
2 год.	TNTC	Нема зростання	Нема зростання
3 год.	TNTC	Нема зростання	Нема зростання
4 год.	TNTC	ЗКОЕ	2КОЕ

Хоча гідрогелі показують виняткові властивості загоєння рани, недоліком звичайного гідрогелю є те, що мікроорганізми часто здатні мігрувати крізь матрицю. Таким чином, якщо рань покрита гідрогелем і одна площа рани стає зараженою, інфекційні організми можуть проникати крізь гідрогель і заражати інші області. Ця можливість аналізувалася за допомогою смуги гідрогелю на окремих ділянках чашки з живильним агаром. Кожну чашку з агаром розділили на дві зон видалення 2 см смужки агару по діаметру чашки. Цей проміжок з'єднали 1,5 см широкою смугою гідрогелю, яку нанесли на агар шириною близько 5 мм з обох кінців. Потім одну сторону чашки інокулювали близько 0,5 мл культури і чашку інкубували, щоб з'ясувати, чи здатні мікроорганізми перетнути гідрогелевий "міст". Результати в таблиці 14 показують, що гідрогель срібла цілком запобігає міграції.

Таблиця 14

Культура	Зона інокуляції	Зона міграції
E. coli	Інтенсивне зростання	Нема зростання
B. subtilis	Інтенсивне зростання	Нема зростання
MRSA1	Інтенсивне зростання	Нема зростання
Ps. Aeruginosa	Інтенсивне зростання	Нема зростання
Гідрогелевий контроль	Інтенсивне зростання	Зростання

З результатів, наведених вище, вибрали прототипну формулу гелю, а варіанти запропонували в наступних прикладах.

Приклад А

Для 1 кг партії гелю брали компоненти частини А і частини В, як показано нижче:

Частина А	Розчин срібла винаходу (32 ppm)	860 г
	Дистильована вода	100 г
	Карбопол	6,8 г
Частина В	Триетаноламин	4,0 г
	Розчин срібла винаходу (32 ppm)	50 г
	Пропіленгліколь	70 г
	ТЕА	6,0 г

Спочатку помістили необхідну кількість дистильованої води і розчину срібла в мішалку і почали перемішувати. Повільно додали в Карбопол (Noveon, США). Перемішування повинне бути досить енергійним для розподілу Карбополу і запобігання утворення згустків. Температура повинна підтримуватися між 60-70°C протягом перемішування.

Змішати всі інгредієнти В у склянці. Нагріти до 70°C і додати до частини А при енергійному перемішуванні. Продовжувати перемішування і охолодити до кімнатної температури. Перевірити вихід партії. Він повинний складати приблизно 1000 г. Триетаноламін забезпечує перехід Карбополу в гель.

Приклад В:

Приготувати всі інгредієнти як у прикладі А, включаючи додавання 1% колагену. Утвориться гель з обома протимікробними препаратами, а також з колагеном, що має підтримуючий тип прискорення загоєння рани.

Приклад С:

Приготували всі інгредієнти як у прикладі А, але включили додавання алоє вера (порошок або розчин) у діапазоні 1-5%. Це забезпечить додаткові властивості загоєння рани.

Приклад D:

Приготували всі інгредієнти як у прикладі А з додаванням 1-10 мас. % мальтодекстрину. Це забезпечить формуляцію гелю, що стимулює грануляцію рани.

Короткий виклад результатів гідрогелю срібла

Було можливо приготувати гелі на основі Карбополу за допомогою колоїдних розчинів срібла за даним винаходом 22 ppm та 32 ppm. Гелі, приготовлені таким чином, мають багато переваг над своїми відповідними розчинами на основі їх здатності утримуватися на місці, зберігаючи властивості вихідних розчинів срібла. Аморфна природа гідрогелю лікарського препарату додає перевагу прискореній обробці рани і також обмежує небезпеку опікових ран, обмежуючи тепловий удар. Більш того, активний агент, колоїдний розчин срібла, аналізували на лінії клітин у більш раннім дослідженні, і було виявлено, що він не токсичний.

Ґрунтовна фізико-хімічна оцінка гелю була проведена з різними партіями, серії детальних способів розроблені для стандартизації і контрольного продукту і відпрацьовані протягом виготовлення.

Проводили мікробіологічні вивчення і показали, що гель зберігає свою бактерицидну природу. Моделювали вивчення міграції срібла й остаточно показали, що гель може доставляти срібло за певний період часу до рани. Розробка формуляції також не дозволить міграції мікробів зсередини назовні і навпаки.

Ці аналізи демонструють, що гіпотетична оцінка гідрогелю срібла на основі публікації (Journal of Wound Care Vol 12, No 8 SEPT 2003), де оцінювали альтернативні пов'язки на основі срібла по приведених пунктах:

1. протимікробна зона інгібування;
2. аналіз мікробної проби;
3. аналіз мікробної трансмісії; і
4. вміст срібла в пов'язках.

У першому аналізі гідрогель срібла буде розміщений у групі В, а у всіх трьох інших аналізах гідрогель срібла буде вважатися в групі А, присутуючи їй усі бали з 20, нарівні з Calgitrol Ag і Acticot, комерційними продуктами, що оцінили вищими балами в даному оцінюванні.

Протибактеріальні і противірусні властивості колоїдного розчину срібла відкрили кілька значних застосувань гідрогелю срібла, крім застосування для пов'язки рани. Як говорилося вище, гідрогель є ідеальним протибактеріальним скрабом для рук. До того ж, не подразнюючий характер колоїдного срібла і гідрогелю роблять комбінацію ідеальною індивідуальною змазкою для застосування чоловіком або жінкою окремо або разом із презервативами і діафрагмами, де комбінація знищувала б бактерії, грибки (відзначена ефективність проти *Candida albicans*) і небезпечні віруси, такі як HIV, та дезінфікувала б бар'єри багаторазового використання, такі як діафрагми. Так як гідрогель містить невелику або будь-яку кількість олії, це негативно не впливає на презервативи і діафрагми, на відміну від деяких інших індивідуальних змазок.

Засіб, що очищує, для рук на основі гідрогелю

(Примітка: вирази «гідрогель» і «SILGEL» означають об'єкт даного винаходу й у рамках даного документа використовуються як еквівалентні)

Вважається, що чисті руки є найбільше важливим фактором для запобігання поширення небезпечних бактерій і мають протимікробну стійкість. Відповідно, було прийняте рішення перевірити ефективність гідрогелю, відомого також як SILGEL - засіб для гігієни рук, відповідно до вказівок MMWR від 12 жовтня, 2002/Vol 51/No RR-16.

Застосовувалася наступна стандартна методика роботи (SOP).

Необхідні матеріали (SOP):

Стандартна суспензія бактерії *Serratia marcescens* (10^8 КУО/мл), водопровідна вода, стерильні гумові рукавички, стерильний розчин для зняття проб, стерильний трипсиновий соєвий агар, стерильні піпетки, стерильні пробірки для аналізу.

Спосіб:

1. 5 мл стандартної суспензії бактерії *Serratia marcescens* поміщають на поверхню рук.

2. 3 мл аналізованого матеріалу наносять на поверхню рук і до рівня 1/3 передпліч.

3. Додають на руки 2 мл водопровідної води і розтирають їх (див. Фігуру 1).

4. Змивають руки і передпліччя у водопровідній воді близько 30 секунд.

5. Повторюють етапи 2-4 даної методики.

6. Після 1-го, 3-го, 7-го і 10-го миття для зняття проб на руки надягають стерильні гумові рукавички.

7. У рукавички вводять 75 мл стерильного розчину для зняття проб.

8. Поверхні рук масажують протягом однієї хвилини.

9. Зразки отримують асептично для кількісного аналізу за допомогою придатного рахункового способу з використанням трипсинового соєвого агару.

10. Застосовують методику засівання чашок, використовуючи оригінальну культуру, а також розведення 10^{-1} , 10^{-2} та 10^{-3} .

Чашки інкубують при 37°C 24 години.

Матеріали і способи

Проводили за вищевказаною методикою SOP.

Використовуване середовище: стерильний трипсиновий соєвий агар.

Використовувана культура: 16-ти годинна культура бактерії *Serratia marcescens* (приблизна щільність 10^8 КУО/мл).

Температура інкубації: 37°C.

Час інкубації: 24 години.

Оцінюваний продукт: Silgel 22 і 32 ppm, Spitaderm, Liquid clean, Sterillium.

Результати: приведені в таблицях 15a-15e, 16a-16e.

Ліва рука

Таблиця 15а

Таблиця 16а

Spitaderm (Додаток - II)

Spitaderm (Додаток - II)

№ промивання/розчин	КУО/мл			
	Оригінальний	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
1е	10	0	0	0
3е	0	0	0	0
7е	0	0	0	0
10е	0	0	0	0

№ промивання/розчин	КУО/мл			
	Оригінальний	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
1е	0	0	0	0
3е	0	0	0	0
7е	0	0	0	0
10е	0	0	0	0

Таблиця 15b

Таблиця 16b

Silgel 32 ppm

Silgel 32 ppm

№ промивання/розчин	КУО/мл			
	Оригінальний	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
1е	0	0	0	0
3е	0	0	0	0
7е	0	0	0	0
10е	0	0	0	0

№ промивання/розчин	КУО/мл			
	Оригінальний	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
1е	0	0	0	0
3е	0	0	0	0
7е	0	0	0	0
10е	0	0	0	0

Таблиця 15c

Таблиця 16c

Silgel 22 ppm

Silgel 22 ppm

№ промивання/розчин	КУО/мл			
	Оригінальний	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
1е	0	0	0	0
3е	0	0	0	0
7е	0	0	0	0
10е	0	0	0	0

№ промивання/розчин	КУО/мл			
	Оригінальний	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
1е	0	0	0	0
3е	0	0	0	0
7е	0	0	0	0
10е	0	0	0	0

Таблиця 15d

Таблиця 16d

Stirillium (Додаток - II)

Stirillium (Додаток - II)

№ промивання/розчин	КУО/мл			
	Оригінальний	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
1е	30	30	0	0
3е	0	10	0	0
7е	0	0	0	0
10е	0	0	0	0

№ промивання/розчин	КУО/мл			
	Оригінальний	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
1е	0	0	0	0
3е	0	0	0	0
7е	0	0	0	0
10е	0	0	0	0

Таблиця 15е

Таблиця 16е

Liquid Clean (Додаток - II)

Рідкий засіб по догляду (Додаток - II)

№ промивання/розчин	КУО/мл			
	Оригінальний	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
1е	10	0	0	0
3е	0	0	0	0
7е	0	0	0	0
10е	0	0	0	0

№ промивання/розчин	КУО/мл			
	Оригінальний	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
1е	0	0	0	0
3е	0	0	0	0
7е	0	0	0	0
10е	0	0	0	0

Права рука

Висновок: Silgel 32 ppm і Silgel 22 ppm задовольняють TFM-критерію (Tentative final monograph) для оцінки ефективності засобів гігієни рук, що визначає показник ефективності як 2-log_{10} зниження числа організму-індикатора на кожній руці після першого використання і 3-log_{10} зниження числа організму-індикатора на кожній руці через п'ять хвилин після десятого використання. Крім того, Silgel був більш ефективний як засіб для миття рук - у порівнянні з Spitaderm і Sterillium. Нарешті, «засіб, що наноситься втиранням» Silgel, як засіб для рук, що очищує, є добре стерпним, тому що виключається потреба в тривалому усмоктуванні і також не приводить до сухості шкіри або подразнення, навпаки сприяє зволоженню на ділянці застосування.

Гідрогель як перев'язний матеріал для ран
Введення

Гідрогелеві перев'язні матеріали можуть використовуватися як первинні перев'язки (аморфні і просочені марлі), або як первинні або вторинні засоби, що загоюють, (пластири) для лікування поверхневих ран і ран на всю товщину шкіри, глибоких ран (аморфні засоби, просочені марлі), ран з некрозами або струпами, незначних опіків або ушкоджень тканин у результаті впливу радіації.

Практично всі гідрогелі, що є присутніми на ринку в даний момент, не включають антибактеріальний агент. Тому антибіотики та антисептики потенційно цитотоксичні і звичайно затримують загоєння ран.

Оскільки розчин срібло/вода за даним винаходом не є цитотоксичним, було прийняте рішення приготувати гідрогель з використанням розроблених у рамках даного винаходу срібних наночастинок.

Нещодавно був представлений спеціально приготовлений гідрогель для загоєння дерматитів, викликаних радіацією. Ці перев'язні матеріали мають високе специфічне нагрівання для забезпечення вентиляційного ефекту і поглинають воду, сироватку крові або кров.

Переваги:

- має заспокійливий і болезаспокійливий ефект,
- регідрирує поверхню рани,
- сприяє автолітичній санації раневої поверхні,
- заповнює поверхню рани,
- легко наноситься і видаляється з рани,
- може бути використаний при наявності інфекції,
- забезпечує доступ для огляду рани.

Недоліки:

- звичайно не рекомендується для ран з важкими ексудатами,
- іноді вимагає вторинних перев'язних матеріалів,
- легко дегідрується якщо не накритий,
- іноді виникають труднощі при закріпленні,
- іноді може викликати мацерацію.

Методика

Гідрогель за даним винаходом приготували у формі листа як придатний перев'язний матеріал. Така форма гідрогелю далі буде згадуватися як SLIDERM.

Результати

SLIDERM - втрата вологи

Мета:

- визначення здатності SLIDERM до втрати вологи.

Методика

Необхідне обладнання:

- лабораторні ваги.

Необхідні матеріали:

- пластиковий лоток.

Спосіб:

- визначити вагу порожнього лотка,
- помістити лист SLIDERM у порожній лоток,
- визначити вагу лотка з поміщенням до нього листом SLIDERM,

- прийняти точку відліку $t=0$ годин,

- знімати показання ваг щогодини,

- знімати показання ваг усю ніч,

- побудувати графік залежності втрати вологи від часу,

- визначити процентні показники усушки.

Результати: див. таблицю 17 і Фігуру 34.

Таблиця 17

Здатність SILDERM втрачати вологу

Час (години)	Маса
a	68 г
i	64 г
2	60 г
	56 г
4	51 г
	48 г
22	40 г

SILDERM - вологовбирання

Мета:

- визначити здатність до вбирання вологи дегідрованого SILDERM.

Методика

Необхідне обладнання:

- лабораторні ваги.

Необхідний матеріал:

- хімічний стакан.

Спосіб:

- визначити вагу листа SILDERM у грамах,
- прийняти точку відліку $t=0$ годин,
- заповнити пробірку водою,
- помістити лист SILDERM у хімічний стакан, зануливши його цілком,

- через інтервали часу в одну годину витягати лист із сушінням без віджимання і вимірювати його вагу,

- протягом ночі фіксувати дані,

- побудувати графік залежності вологовбирання від часу,

- обчислити відсоток вологовбирання дегідрованого гелю.

Результати: див. таблицю 18 і Фігуру 35.

Таблиця 18

Час, (години)	Маса, г
0	45
1	48
2	51
3	53
4	54
5	56
6	57
22	68

Висновок: Лист дегідрованного SILDERM може абсорбувати вологу до 52% від своєї ваги.

SILDERM - вивільнення срібла

Мета:

- визначити стабільне вивільнення наночастинок срібла з SILDERM.

Принцип:

- гідрогелеві перев'язні листи поміщають на рань на 48-72 години. У цьому випадку бажано визначити антимікробну активність перев'язних матеріалів протягом зазначеного періоду часу щодо срібла, що вивільняється.

Необхідне обладнання:

- інкубатор, ламінарний потік.

Необхідні матеріали:

- стерильні чашки живильного агару, стерильні бавовняні тампони, мікропіпетка (об'ємом 100 мкл - 1000 мкл), 16-ти годинна культура *Pseudomonas aeruginosa* (дикий тип).

Спосіб:

- вирізувати шматок SILDERM розміром 3x4 см,

- помістити SILDERM на чашку з живильним агаром, на який тампоном нанесена культура *Pseudomonas aeruginosa* (дикий тип),

- інкубувати при 37°C протягом 18 годин,

- виміряти інгібіторні зони по вертикалі і горизонталі,

- потім помістити аналогічний шматок SILDERM на свіжу чашку з живильним агаром, на яку тампоном нанесена культура *Pseudomonas aeruginosa* (дикий тип),

- інкубувати як зазначено вище,

- повторювати методику мінімум 7 днів.

Результати: Під час фіксування відбитків SILDERM була показана інгібіторна активність для 3 перенесень як показано в таблиці 19 нижче.

Таблиця 19

Аналіз проби SILDERM

№ перенесення	Вертикальне інгібування	Горизонтальне інгібування
Перенесення 1	52 мм	35 мм
Перенесення 2	53 мм	35 мм
Перенесення 3	51 мм	34 мм

Висновок: гідрогель SILDERM показав здатність викликати безупинну антимікробну актив-

ність понад 3 проб свіжого інокулюму кожні 24 години. Наступні аналізи продовжуються.

Композиція середовища для обговорюваних вище варіантів здійснення був наступним:

Живильний агар:

Пептон 10 г,

Хлорид натрію 5 г,

М'ясний екстракт 3 г,

Дистильована вода 900 мл,

Агар 2,5 г,

pH 7,2±0,2.

Крім того, існує можливість створювати формуляції SILDERM з наступними компонентами

- Колаген.

Колаген - найбільш розповсюджений білок в організмі, волокнистий і нерозчинний, він утворений фібробластами. Його волокна містяться в сполучних тканинах, включаючи шкіру, кістки, зв'язки і хрящі. Під час загоєння ран колаген сприяє наростанню і правильній організації свіжоутворених колагенових волокон і грануляції тканин на поверхні рани. Він також стимулює розвиток і санацію поверхні рани, створення сприятливого для загоєння середовища.

- Мальтодекстрин.

Мальтодекстрин виконує функцію стимулятора загоєння ран, що прискорює загоєння активізацією і накопиченням макрофагів, що, таким чином, пригнічує інфекцію і підвищуючи грануляцію.

- Фактори росту, похідні від тромбоцитів (PDGF).

PDGF стимулюють хемотактичний рекрутинг і швидке розмноження клітин, що відповідають за загоєння ран і підсилюють формування грануляційної тканини. Це головним чином використовується для лікування діабетичних нейропатичних виразок нижніх кінцівок.

Динатрію етилендіамінтетраацетат (EDTA) як добавка

Відома здатність динатрію EDTA підсилювати антибактеріальний ефект різних компонентів, як натуральних так і синтетичних, за допомогою механізму, як припускають, приводить до збільшення проникності клітинних оболонок бактеріальних клітин, що, таким чином, полегшує проникнення антибактеріальних компонентів.

Було показано, що металевий хелатуючий агент і підсилювач коефіцієнта проникності зовнішньої мембрани бактеріальних клітин, етилендіамінтетраоцтова кислота, підсилюють активність різних антимікробних агентів проти *Pseudomonas aeruginosa*. Додавання субінгібіторної концентрації EDTA значно зменшує мінімальну дозу інгібітору цефпрозилу проти *E. coli* і *Serratia marcescens*.

Підтверджено, що іміпенем, цефтазидим, цефепім плюс 150 мкг EDTA можуть підвищувати значення діаметру інгібіторної зони для *Pseudomonas aeruginosa*. Опубліковано дослідження, які свідчать, що EDTA впливає на чутливість *Pseudomonas aeruginosa*. EDTA, коли використовується разом з AgNO₃, значно підсилює протибактеріальну дію так, що штами *Klebsiella pneumoniae* і *Staphylococcus aureus*, що демонструють стійкість до 70 мкг/мл AgNO₃, за резуль-

татами спостережень стають чутливими до 10 мкг/мл цієї сполуки.

Були розроблені специфічна композиція і набір аналізів для визначення, чи зможе композиція срібло/вода досягти корисної взаємодії з динатрію EDTA. Конкретніше, динатрію EDTA був виготовлений у West Coast Laboratories, Мумбаї, Індія. Динатрію EDTA також відомий як Na_2EDTA (динатрієва сіль етилендіамінтетраоцтової кислоти) і має формулу: $(\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{COOH})\text{CH}_2\text{COONa})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ і молекулярну вагу 372,24.

Для аналізів використовувалося наступне середовище: живильний агар: (HiMedia) 1000 мл, B.No 1G115 exp. Aug 2006; пепсинова суміш тваринних тканин 50,00 г; дріжджовий екстракт 1,5 г; яловичий екстракт 1,5 г; хлорид натрію 5 г; агар типу-I 25 г; pH 7,4±0,2.

Штами мікробів

32 ppm композиції срібло/вода окремо, 22 ppm композиції срібло/вода окремо та 32 ppm композиції срібло/вода, а також 22 ppm композиції срібло/вода додали до Na_2EDTA , та де кожна аналізувалася проти ряду мікроорганізмів, включаючи:

Escherichia coli (штам, стійкий до ряду препаратів) зі зразка фекалій;

Pseudomonas aeruginosa (штам, стійкий до ряду препаратів (MDR)) з мокротиння;

Стійкий до метициліну *Staphylococcus aureus* (штам, стійкий до ряду препаратів) із гнійника в поперековому районі.

Вищезазначені MDR штами отримали з P.D.Hinduja Hospital (Мумбаї, Індія).

Shingella flexneri (лабораторний штам),

Salmonella typhi (лабораторний штам),

Бактеріальні штами були вирощені протягом 24 годин при температурі 37°C на живильному агарі (pH 7,4).

Розчини 32 ppm і 22 ppm, що додаються до Na_2EDTA , були приготовлені на дистильованій воді. Кожен мікроорганізм суспендували в стерильному соляному розчині і розводили до 10^6 колонієутворюючих одиниць (КУО/мл). Їх наносили за допомогою стерильного тампона на поверхню живильного агару. В агарі зробили лунки (10 мм у діаметрі), і в них помістили 0,1 мл відповідного розчину. Після інкубації протягом 24 годин при температурі 37°C усі чашки були перевірені на наявність зон інгібіторного росту, їх діаметр виміряли у міліметрах з використанням пристрою для виміру зони. Результати наведені в таблиці 20.

Результати та обговорення

Таблиця 20

Срібло/вода + Na_2EDTA

Система	E. coli	MRSA	C. albicans
Срібло/Вода 32 ppm-Контр.	21мм	24мм	27мм
Срібло/Вода 32 ppm+0,5% Na_2	22мм	29мм	40мм
Срібло/Вода 22 ppm+	20мм	23мм	29мм
Срібло/Вода 22 ppm+0,5% Na_2	22мм	31мм	>40мм

0,5 ppm динатрію EDTA виразно збільшує дієвість композицій срібло/вода за даним винаходом, при обох рівнях концентрації: 22 і 32 ppm.

Срібна сіль EDTA у якості самостійного антибактеріального засобу

Була розроблена специфічна композиція і набір аналізів, щоб визначити чи виявляють хелати срібла, такі як срібна сіль EDTA (або AgEDTA) антибактеріальні властивості. Конкретно, комерційно доступні композиції срібної солі EDTA були отримані від AKZO Nobel і Alpha Chemicals.

Необхідне обладнання:

- інкубатор, ламінарний потік.

Необхідні матеріали:

- стерильні чашки живильного агару, стерильні бавовняні тампони, мікропіпетка (об'ємом 100 мкл - 1000 мкл), 16-ти годинні культури *Escherichia coli* (MDR), *Escherichia coli* (дикий тип), *Pseudomonas aeruginosa* (MDR), *Pseudomonas aeruginosa* (дикий тип), стійка до метициліну *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P.

Спосіб:

- 16-ти годинні культури даних аналізованих мікроорганізмів нанести на стерильну чашку з живильним агаром з використанням тампона,

- витримувати чашки 15 хвилин для абсорбції,

- через 15 хвилин за допомогою 10 мм пробкового свердла на поверхні агару виконати лунки,

- помістити 100 мкл відповідного розчину в лунки, витримувати 15 хвилин для попередньої дифузії,

- інкубувати при 37°C протягом 24 годин і спостерігати результати,

- вимірити зону інгібування в мм за допомогою зонного вимірника HiMedia.

Результати: див. таблицю 21 і Фігури 36 і 37.

Таблиця 21

Порівняльна оцінка хелатів срібла

Організм	Конц.	Зона інгібування	
		AKZO	ALPHA
E. coli (дикий тип)	28 ppm	20 мм	22 мм
	57 ppm	22 мм	24 мм
	114 ppm	22 мм	25 мм
E. coli (MDR)	28 ppm	20 мм	19 мм
	57 ppm	21 мм	21 мм
	114 ppm	23 мм	22 мм
Ps. aeruginosa (дикий тип)	28 ppm	21 мм	20 мм
	57 ppm	27 мм	24 мм
	114 ppm	28 мм	27 мм
Ps. aeruginosa (MDR)	28 ppm	15 мм	17 мм
	57 ppm	21 мм	20 мм
	114 ppm	25 мм	22 мм
S. aureus (дикий тип)	28 ppm	16 мм	15 мм
	57 ppm	19 мм	18 мм
	114 ppm	22 мм	21 мм
MRSA	28 ppm	19 мм	20 мм
	57 ppm	21 мм	22 мм
	114 ppm	26 мм	24 мм

Висновок: хелати срібла, такі як срібна сіль EDTA, проявляють антибактеріальний ефект.

Комбінована терапія з використанням антибіотиків

Перший час після відкриття, антибіотики розглядалися як чудодійний лікувальний засіб, що було дійсно так. Шкода від інфекцій, що були смертельними на рубежі сторіч, протягом XX століття була значно знижена. Але медицина йде по замкнутому колу. Неправильне, надмірне та/або недоречне вживання антибіотиків дозволило стійким штамам бактерій пристосуватися до дії антибіотиків і знову наносити шкоду здоров'ю і життю.

Серед інших факторів, що сприяли розвитку стійкості у бактерій - використання антибіотиків у сільськогосподарських цілях і як харчові добавки (наприклад, для домашніх птахів, великої рогатої худоби, свиней). Явище надмірного застосування антибіотиків, на думку багатьох фахівців, широко поширено в сільському господарстві США та інших країн. Терапія з використанням антибіотиків найчастіше починається ще до того, як зразок культури надійде в лабораторію. Avian influenza стала дуже стійкою до антибіотиків у результаті повсюдного використання антибіотиків бідними азіатськими фермерами. Також пацієнти мають легкий і неконтрольований доступ до антибіотиків, некоректні дозування, неповний цикл лікування також сприяють появі стійкості штамів до препаратів. Існує важливий клінічний результат проблеми стійкості. Багато препаратів, такі як пеніцилін, що вважали чудом, мали великий потенціал ефективного контролю при першому введенні, але як тільки бактерія адаптувалася до препарату, цінність його дії значно знижувалася.

Проблема стійкості до антибіотиків на сьогоднішній день носить глобальний характер. Відомо, що деякі сучасні високопатогенні бактерії, такі як окремі штами *Staphylococcus aureus*, знайдені в лікарнях, на даний момент виявляють стійкість до всіх антибіотиків крім ванкоміцину, причому очікується, що стійкість до ванкоміцину теж незабаром з'явиться. MRSA (стійка до метициліну *Aureus*) і VRE (стійка до ванкоміцину *Enterococci*) викликають несоматичні інфекції і звичайно при їх виявленні в лікарняних відділеннях останні закриваються або навіть знищуються.

У зв'язку з цією проблемою встає невідкладна задача пошуку альтернатив, як наприклад, заміна старих антибіотиків новими або поліпшення ефективності існуючих. Також зростаюча шкода від бактерій, стійких до ряду препаратів, робить актуальним розгляд композицій срібло/вода, що є предметом даного винаходу.

У якості одного з засобів боротьби з постійно зростаючою стійкістю бактерій до антибіотиків передбачене використання комбінованої терапії, у якій використовується сполучення двох або більшого числа різних антибіотиків з різними механізмами дії. Різні *in vitro* способи доступні для виміру синергитичних ефектів комбінацій антибіотиків, але результати можуть відрізнятись при використанні різних аналізів, також на сьогодніш-

ній день не можна виключити розвиток стійкості і до них.

Цілі та задачі

Були поставлені наступні цілі та задачі даного дослідження:

1. Визначити зразок, стійкий до ряду препаратів, клінічних ізолятів.

2. Визначити чутливість клінічних ізолятів до розчинів срібло/вода, що є предметом даного винаходу.

3. Визначити комбінацію антибіотиків (синергію) за допомогою аналізу дискової апроксимації.

4. Визначити мінімальну інгібіторну концентрацію антибіотиків і композицій срібло/вода, що є предметом даного винаходу.

5. Вивчити синергетичну взаємодію між антибіотиками і розчинами срібло/вода, що є предметом даного винаходу, за допомогою досліду шахового розподілу.

Матеріали та способи

Збір клінічних ізолятів

Наступні клінічні ізоляти отримали з P.D.Hinduja Hospital, Called Road, Mahim, Mumbai-4000016, Індія:

- *Eschenchia coli* (штам, стійкий до ряду препаратів) із проби фекалій;

- *Pseudomonas aeruginosa* (штам, стійкий до ряду препаратів) з мокротиння;

- Стійка до метициліну *Staphylococcus aureus* (штам, стійкий до ряду препаратів) із гнійника в поперековому районі.

Середовище, розчини і таблетки антибіотиків:

Середовище:

- живильний бульйон,

- ізоляти агар,

- агар Мюлера-Хінтона.

Розчини:

- розчини антибіотиків,

- розчин срібло/вода (22 ppm).

Композиції середовищ і розчини, використовували для різних експериментів у даному дослідженні, приведені в таблиці 26 нижче.

Використано готову доступну таблетку антибіотика з відповідною концентрацією. Вміст таблетки для кожного антибіотика приведено в таблиці 27.

Підготовка інокулюму

Петлею чистої культури інокулювали живильний бульйон і інкубували протягом ночі при температурі 37°C. 500 мкл отриманої культури перенесли у свіжий живильний бульйон і інкубували 4-6 годин при температурі 37°C. Щільність культури довели до близько 10^5 - 10^6 КУО/мл.

Аналіз чутливості до антибіотика - спосіб Кірбі Бауера:

У цьому способі таблетки, що містять антибіотик, помістили на чашку з агаром, попередньо покриту бактеріальною суспензією. Антибіотик дифундує з навколишнього середовища. Існує логарифмічна залежність зниження концентрації антибіотика при збільшенні відстані від таблетки. Чиста зона навколо таблетки показує сприйнятливості організму до антибіотика. Чиста зона вимірюється в міліметрах і порівнюється з переліком стандартів NCCLS.

Спосіб:

1. Стерильні ватні тампони помістили в пробірки з бульйоном і інокулюмом і використовували для поверхневого посіву на чашках з агаром Мюлера-Хінтона, щоб одержати культури з ростом, що зливається.

2. Після того як інокулят всотався в середовище, таблетки з антибіотиком помістили на поверхню пластин за допомогою стерильних щипців.

3. Чашки інкубувались при температурі 37°C близько 24 годин

4. Чиста зона навколо таблетки вказує на чутливість організму. Діаметр зони був записаний і інтерпретований відповідно до переліку стандартів NCCLS. (Див. таблицю 27) (Kopelman 5th ed.1997).

Визначення чутливості ізолятів по методу дифузії 10 ppm агару. Це було визначено за допомогою способу проб з лунок, у які велику кількість ізоляту висівали на агарове середовище, після чого 10 ppm розчину срібл/вода додавали в лунки (10 мм), виконані у твердому середовищі інокуляту. Потім заміряли інгібіторні зони.

Спосіб:

1. Стерильні ватні тампони помістили в пробірки з бульйоном і інокулюмом і використовували для поверхневого посіву на чашках з агаром Мюлера-Хінтона, щоб одержати культури з ростом, що зливається.

2. У шарі агару виконували лунки.

3. Різні концентрації композицій срібл/вода додавали в кожну лунку.

4. Плити інкубували при 37°C близько 24 годин.

5. Відзначали інгібіторні зони.

Визначення комбінації антибіотиків аналізом дискової дифузії

Це простий і діючий аналіз для аналізу взаємодії між клінічним ізолятом і комбінацією антибіотиків. У цьому аналізі таблетки антибіотиків розміщуються на чашці з агаром за способом Кірбі-Бауера. Таблетки повинні бути розподілені на відстані, рівній або небагато більшій, ніж середній діаметр ігібіторних зон, утворених кожною таблеткою окремо. Форма отриманої інгібіторної зони буде свідчити про рід взаємодії між клінічним ізолятом і комбінацією антибіотиків.

Спосіб:

1. Стерильні ватні тампони помістили в пробірки з бульйоном і інокулюмом і використовували для поверхневого посіву на чашках з агаром Мюлера-Хінтона, щоб одержати культури з ростом, що зливається.

2. Після того як інокулят абсорбувався середовищем, дві таблетки антибіотика (досліджувані комбінації) помістили на поверхні чашок за допомогою стерильних щипців на відстанях рівних або злегка більших, ніж сума діаметрів інгібіторних зон, утворених кожною таблеткою окремо.

3. Чашки інкубували при 37°C близько 24 годин.

4. Форма інгібіторних зон показувала тип взаємодії, тобто синергію, антагонізм або індиферентність.

Фігура 25 являє собою діаграму, що показує потенційну взаємодію в аналізі дискової дифузії для бактеріальної синергії.

Конкретніше, Частина А показує адитивний або індиферентний ефект; кожен антибіотик утворює інгібіторну зону, що ніяк не зв'язана із суміжною; Частина Б демонструє антагоністичний ефект, при якому інгібіторні зони одного антибіотика зменшуються в присутності іншого; а Частина С демонструє два можливих прояви синергичної взаємодії. У лівій частині збільшення інгібіторної зони виявляється в місці взаємодії двох антибіотиків. У правій частині кожен антибіотик утворює інгібіторну зону самостійно, але бактеріальний ріст інгібується в місці дифузії двох антибіотиків.

Визначення мінімальної інгібіторної концентрації (MIC) антимікробних агентів. Серійні розчини антимікробного агента готуються в бульйоні, до якого додається стандартизована бактеріальна суспензія. По закінченні інкубаційного періоду пробірки візуально досліджуються на предмет росту. Найнижча концентрація інгібіторного агента, який інгібує видимий ріст, приймається за MIC.

Використовувані антибіотики:

Амікацин: Мікацин ін'єкція (250 мг) Aristo labs, Mumbai Індія. Batch no.02D054, mfd Apr.2004.

Цефоперазон:

Магнамідин ін'єкція (250 мг) Pfizer Ltd, Mumbai, Індія

Партія № 32035153A

Дата виготовлення: Березень, 2003

Ципрофлоксацин:

Цифран (200мг/мл) Ranbaxy Labs, Jaipur, Індія

Партія №9042601

Дата виготовлення: Березень, 2004.

Спосіб:

1. Кількість антимікробного агента серійно розводять у відповідних пропорціях.

2. Пробірка без антимікробного агента служить контролем росту.

3. Потім кожна пробірка засівається стандартизованою бактеріальною суспензією і інкубується при 37°C близько 24 годин.

4. По закінченні інкубаційного періоду, пробірка візуально перевіряється на мутність. Мутність показує, що антимікробний агент, що міститься в середовищі, не інгібував бактеріальний ріст.

5. За MIC приймається найнижча концентрація антимікробного агента, що інгібував видимий ріст.

Дослідження синергетичної дії за допомогою досліду із шаховим розподілом.

Дослід із шаховим розподілом це спосіб, використовуваний, коли необхідно проаналізувати ряд антибіотиків та/або ряд розведень. Препарат А періодично відкладається по ординаті, препарат Б періодично відкладається по абсцисі. У результаті отримана таблиця відбиває всі можливі комбінації двох антибіотиків, починаючи з пробірки, що містить найвищу концентрацію кожного з двох антибіотиків.

Протокол

Лікарський засіб В мкг/мл	2 x							
	MIC							
	MIC							
	1:2							
	MIC							
	1:4							
	MIC							
	1:8							
MIC								
1:16	+ve							
MIC	C							
0	0	1:16	1:8	1:4	1:2	MIC	2 x	
		MIC	MIC	MIC	MIC		MIC	
		Лікарський засіб А мкг/мл						

Розподіл розведень лікарських засобів у досліді із шаховим розподілом.

Перші ряд і стовпчик пробірок тільки з одним лікарським засобом служили для підтвердження окремих значень MIC аналізованих ізолятів.

Одна пробірка без антибіотика є позитивним контролем.

1. В останнє значення 5 мл у кожній пробірці антимікробні лікарські засоби, розведені в бульйоні, додали від відповідних маткових розчинів.

2. Додали 0,1 мл суспензії культури.

3. Інкубували при 37°C 24 години.

5. Результати представлені графіком ізоболограми, отриманої шляхом сполучення крапок, що представляють усі комбінації з однаковим ефектом, включаючи еквівалентно ефективну концентрацію антибіотика, використовуваного окремо.

Розрахунки:

Elion et al (1954) описали спосіб підрахунку результатів MIC, отриманих у межах індексу фракціональної інгібіторної концентрації (FIC), обумовлений як сума значень FIC двох лікарських засобів у комбінації.

$FIC \text{ індекс} = FIC \text{ лікарського засобу А} + FIC \text{ лікарського засобу В}$.

$FIC \text{ лікарського засобу А} = (MIC \text{ лікарського засобу А у комбінації з лікарським засобом В}) / (MIC \text{ лікарського засобу А})$.

Індекс менш ніж 0,5 розглядають як прояв синергизму; індекс більш ніж 2,0 є проявом антагонізму. (Koneman 5th ed. 1997)

Фігура 26 показує титрування із шаховим розподілом для антимікробного синергизму.

Кожний квадрат представляє пробірку. Підвищення концентрацій антибіотика А розподіляється уздовж горизонтальної осі, а антибіотика В уздовж вертикальної осі. Заштриховані квадрати показують ріст бактерій. У панелі А антибіотики показують адитивний ефект; ізоболограма пра-

воруч є прямою лінією. Панель В представляє синергизм, де ізоболограма являє собою увігнуту криву. Панель С показує антагоністичні результати з опуклою кривою.

Визначення зразка, чуттєвого до антибіотиків, способом Кірбі-Бауера.

Таблиця 22

Антибіотики	Розмір зони організмів (мм)		
	E.c	Ps	MRSA
Амікацин	20	9	22
Ципрофлоксацин	-	-	20
Канаміцин	14	-	-
Гентаміцин	19	-	-
Тетрациклін	-	-	27
Налідиксинова кислота	-	-	-
Цефоперазон	-	14	23
Цефтазидим	10	16	-
Хлорамфеникол	-	-	-
ASAP конц ppm	Розмір зони організмів (мм)		
	E. coli	Pseudomonas	MRSA
32	16	16	13
16	15	14	11
8	11	1	-
4	-	-	-
2	-	-	-

Ключ: інгібування відсутнє.

Див. фотографії Фігури 27.

Визначення комбінації антибіотиків за допомогою аналізу дискової апроксимації

З різних комбінацій антибіотиків, перевірених на синергетичний або адитивний ефект на ізолятах, інгібіторні зони, що вказують на можливість синергії, спостерігалися тільки у випадку MRSA для комбінацій амікацину з цефоперазоном та

105

амікацину з тетрацикліном (див. Фіг. 28) У випадку з іншими двома ізолятами *E. coli* і *Pseudomonas* інгібіторні зони, що вказують на синергетичні комбінації, не були виявлені, (см. Фіг. 29 і 30)

Визначення мінімальної інгібіторної концентрації антибіотиків

Таблиця 23

MIC амікацину

Маткова культура: 125мкг/мл

Розріджувач: живильний бульйон 20

Ключ: +: Ріст

-: Відсутність росту.

Культура: MRSA

MIC амікацину для MRSA 0.8мкг/мл.

MIC цефоперазона

Маткова культура: 100 мкг/мл

Розріджувач: живильний бульйон

Культура: MRSA

Пробірка №.	Конц. мкг/мл	Зростання
1	0,2	+
2	0,4	+
3	0,6	+
4	0,8	-
5	1	-
6	2	-
7		-
8	4	-
9	5	-
10	+ ve	+
11	- ve	-

Ключ: +: ріст.

-: Відсутність росту.

MIC цефоперазона для MRSA - 10 мкг/мл.

MIC срібло/вода

Маткова культура: 20 ppm розчину срібло/вода

Пробірка №	Конц. (ppm)	Зростання
1	5	+
2	10	-
3	15	-
4	20	-
5	25	-
6	30	-
7	35	-
8	40	-
9	45	-
10	50	-
11	+ ve	+
12	- ve	-

Розріджувач: живильний бульйон

r*|<. MRSA

Таблиця 23а

Пробірка №	Конц. (ppm)	Зростання
1	1	+
2	2	+
3	3	+

91209

106

4	4	+
5	5	+
6	6	+
7	7	+
8	8	-
9	9	-
10	10	-
11	+ ve	+
12	- ve	-

Ключ: +: ріст.

-: Відсутність росту.

MIC срібло/вода для MRSA - 8 ppm.

MIC срібло/вода

Маткова культура: 20 ppm

Розріджувач: живильний бульйон

Культура: *E. coli*

Таблиця 24

Пробірка №	Конц. (ppm)	Зростання
1	1	+
2	2	+
3	3	-
4	4	-
5	5	-
6	6	-
7	7	-
8	8	-
9	9	-
10	+ ve	+
11	- ve	-

Ключ: +: Ріст.

-: Відсутність росту.

MIC срібло/вода для *E. coli* - 3 ppm.

MIC срібло/вода

Маткова культура: 20 ppm срібло/вода

Розріджувач: живильний бульйон

Культура: *Pseudomonas*

Таблиця 25

Пробірка №	Конц. (ppm)	Зростання
1	1	+
2	2	+
3	3	-
4	4	-
5	5	-
6	6	-
7	7	-
8	8	-
9	9	-
10	+ ve	+
11	- ve	-

Ключ: +: ріст.

-: Відсутність росту.

MIC срібло/вода для *Pseudomonas* складала - 3 ppm

107

Вивчення синергитичної дії дослідом шахового розподілу.
Комбінація амікацину і срібло/вода.

91209

108

MIC амікацину = 0,8 мкг/мл.
MIC срібло/вода = 8 ppm.
Культура: MRSA

Амікацин (мкг/мл)	1,6	-	-	-	-	-	-	
	0,8	-	-	-	-	-	-	
	0,4	+	-	-	-	-	-	
	0,2	++	-	-	-	-	-	
	0,1	++	++	-	-	-	-	
	0,05	++	++	-	-	-	-	
	0	+ve C	++	++	++	+	-	
		0	0,5	1	2	4	8	12
		Срібло/вода (ppm)						

Ключ: +: ріст.
-: Відсутність росту.

Синергитична концентрація для MRSA складала 0,005 мкг/мл амікацину і 1 ppm срібло/вода за даним винаходом.

Розрахунок FIC індексу:

$FIC \text{ амікацину} = (MIC \text{ амікацину в комбінації}) / (MIC \text{ амікацину окремо})$
 $= 0,05 / 0,8$
 $= 0,0625$

$FIC \text{ ASAP} = (MIC \text{ срібло/вода в комбінації}) / (MIC \text{ срібло/вода окремо})$
 $= 1/8$
 $= 0,125$

$FIC \text{ індекс} = FIC \text{ амікацину} + FIC \text{ срібло/вода}$
 $= 0,0625 + 0,125$
 $= 0,1875$

FIC індекс означає синергізм між Амікацином і срібло/вода

Цефоперазон (мкг/мл)	15	-	-	-	-	-	-	
	10	-	-	-	-	-	-	
	5	+	-	-	-	-	-	
	2.5	++	-	-	-	-	-	
	1.25	++	-	-	-	-	-	
	0.62	++	++	-	-	-	-	
	5	++	++	-	-	-	-	
	0	+ve C	++	++	++	+	-	-
		0	0.5	1	2	4	8	12
		Срібло/вода (ppm)						

Ключ: +: ріст.
-: Відсутність росту.

Синергетична концентрація MRSA склала 0,625мкг/мл цефоперазону і 1 ррт срібло/вода.

Розрахунок FIC індексу:

$FIC \text{ цефоперазону} = (MIC \text{ цефоперазону в комбінації}) / (MIC \text{ цефоперазону окремо})$.

$= 0,625 / 10$

$= 0,0625$.

$FIC \text{ ASAP} = (MIC \text{ срібло/вода в комбінації}) / (MIC \text{ срібло/вода окремо})$.

$= 1/8$

$= 0,125$.

$FIC \text{ індекс} = (FIC \text{ амікацину} + FIC \text{ срібло/вода}) = 0,0625 + 0,125 = 0,1875$.

FIC індекс показує синергизм між цефоперазоном і срібло/вода.

III. Комбінація цефоперазона та амікацину. MIC цефоперазона=10 мкг/мл. MIC амікацину=8 ррт. Культура: MRSA

15	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-
5	+	-	-	-	-	-	-
2,5	++	-	-	-	-	-	-
1,25	++	++	++	-	-	-	-
0,62	++	++	++	+	-	-	-
5	+	+	+	+	+	-	-
0	+ve C	++	++	++	+	-	-
	0	0,5	1	2	4	8	12

Амікацин (мкг/мл)

Ключ: +: ріст.

-: Відсутність росту.

Аддитивна концентрація цефоперазону склала 1,25, амікацину - 0,4.

Розрахунок FIC індексу:

$FIC \text{ цефоперазону} = (MIC \text{ цефоперазону в комбінації}) / (MIC \text{ цефоперазону окремо})$.

$= 1,25 / 10$

$= 0,125$

$FIC \text{ амікацину} = (MIC \text{ амікацину в комбінації}) / (MIC \text{ амікацину окремо})$

$= 0,4 / 0,8$

$= 0,5$

$FIC \text{ індекс} = MIC \text{ амікацину} + FIC \text{ цефоперазону}$

$= 0,125 + 0,5$

$= 0,625$

FIC індекс визначає додаток цефоперазону до срібло/вода.

Обговорення

У цьому прикладі, із трьох клінічних ізолятів, зібраних у P.D. Hinduja Hospital, Mumbai, Індія, грамнегативні ізоляти показали достатню стійкість до більш старих антибіотиків, таких як ампіцилін, тетрациклін, канаміцин, і більш старих хінолонів, таких як налідиксова кислота, а також цефалоспоринов третього покоління - цефтазидиму і цефоперазону. Клінічні ізоляти *Pseudomonas*, використані для дослідження, також виявили стійкість до свіжого цiproфлоксацину і до напівсинтетичного аміноглікозиду, амікацину. Грампозитивні ізоляти MRSA також виявили стійкість до більш старих антибіотиків і

також до цефалоспоринов третього покоління, таких як цефтазидим.

Вивчення їх чутливості до композицій срібло/вода за даним винаходом показало, що грамнегативні ізоляти були абсолютно чутливі до близько 3 ррт розчину срібло/вода і, як було встановлено, MRSA ізоляти інгібуються 8 ррт розчину срібло/вода, що було встановлено за допомогою дифузії в агарі і способом макророзведення в бульйоні.

Взаємодію двох антибіотиків у комбінації з ізолятами встановили за допомогою способу дискової дифузії, при якому отримали синергетичні результати між цефоперазоном і амікацином проти MRSA. Для підтвердження цього провели аналіз з шаховим розподілом. У результаті аналізу дискової дифузії було також установлене, що немає ніякої взаємодії або синергетичного зв'язку між досліджуваними антибіотиками проти грамнегативних ізолятів.

Виконали дослід із шаховим розподілом і знайшли FIC індекс двох антибіотиків, рівний 0,625, відкіля випливає, що взаємодії і синергетичного зв'язку для комбінації амікацину і цефоперазона немає.

Виконали дослід із шаховим розподілом також для того, щоб вивчити комбінацію розчину срібло/вода з амікацином і також з цефоперазоном. Результати показали, що в присутності композицій срібло/вода за даним винаходом ефективна концентрація антибіотика була зменшена в

чотири рази. FIC-індекс цих комбінацій склав 0,1875, що в кожному випадку вказує на синергизм комбінації срібло вода з амікацином і срібло/вода з цефоперазоном.

Результати вивчення показують, що при взаємодії з клінічними MDR ізолятами дози антибіотика можуть бути значно зменшені в присутності композиції срібло/вода, що, як спостерігали, не мали місце в комбінації антибіотиків.

Ці результати показують, що композиції срібло/вода, що є об'єктом даного винаходу, будуть відігравати важливу роль у комбінованій терапії з використанням антибіотиків, особливо проти штамів, стійких до ряду різних діючих компонентів.

Таблиця 26

1. Живильний бульйон	
Пептон	10,0 г
Хлорид натрію	5,0 г
Екстракт м'яса	3,0 г
Декстроза	5,0 г
Фенол красний (індикатор)	0,001%
Дистильована вода	900 мл
2. Живильний агар	
Пептон	10,0 г
Хлорид натрію	5,0 г
Екстракт м'яса	3,0 г
Дистильована вода	900 мл
Агар	2,0%
pH	7,2
3. Агар Мілера-Хілтона	
Продукт гідролізу казеїнової кислоти	29,0 г
Яловичий крохмаль	10,0 г
Картопляний крохмаль	2,5 г
Агар	1,2%
Дистильована вода	1000 мл
pH	7,6

Таблиця 27

Пояснення діаметра зони
(NCCLS документ, 1988)

Антибіотики	Диск	Діаметр зони в мм		
	конц. (мкг)	стійкий	проміжний	чуттєвий
Амікацин (AK)	30	≤14	15-16	≥17
Ципрофлоксацин (RC)	5	≤15	16-20	≥21
Канаміцин (KA)	30	≤13	14-17	≥18
Гентаміцин (GM)	10	≤12	13-14	≥15
Тетрациклін (TE)	30	≤14	15-18	≥19
Налідиксова кислота (NA)	30	≤14	14-18	≥19
Цефоперазон (CP)	75	≤15	16-20	≥21
Цефтазидим (FG)	30	≤14	15-17	≥18
Хлорамфенікол (CH)	30	≤12	13-17	≥18

Комбінація гентаміцину та композиції срібло/вода як пудра для присипки ран

Введення

Пудри для присипки ран є формуляціями для попередження або лікування поверхневих вірусних інфекцій ран, опіків, шкірних виразок або нарізів після порізів.

Пудри для ран звичайно представляють широкий спектр антибіотиків/антисептиків. Використання таких препаратів не дозволяє виключити супутню терапію з використанням антибіотиків там, де це можливо.

Більшість продуктів для ран, представлених на ринку на сьогоднішній день, ґрунтуються на йод-повідон. Йод-повідон є високо цитотоксичним препаратом на відкритих ранах і особливо проти-показаний діабетикам. Крім того, йод випаровується, і його потрібно повторно наноситися кожні 6-8 годин.

Інше потенційне поле застосування - ветеринарна галузь. Домашні тварини часто стражда-

ють від порізів, саден або інших ран, що здобуваються в результаті розчісування ділянок ураження паразитами або сутічок з іншими тваринами. У подібних випадках корисним міг би виявитися середній, а не широкий, спектр антимікробних препаратів.

Було вирішено створити пудру для присипки ран, що містить препарат повільного вивільнення, що включає гентаміцин і срібні наночастинки за даним винаходом. Препарат на основі тальку, згадується далі як SILDUST, містить близько 200 ppm срібних наночастинок і близько 100 ppm гентаміцину.

Результати

SILDUST - чутливість

Ціль: визначити чутливість SILDUST і його складових до мікроорганізмів.

Методика:

Необхідне обладнання:

- Інкубатор, ламінарний потік.

Необхідні матеріали:

113

- стерильні чашки живильного агару, стерильні бавовняні тампони, мікропіпетка (об'ємом 100 мкл - 1000 мкл), 16-ти годинні культури *Escherichia coli* (MDR), *Pseudomonas aeruginosa* (MDR), стійка до метициліну *Staphylococcus aureus* (10^8 КУО/мл)

Спосіб:

- 0,1 мл культури нанести на поверхню живильного агару розтиранням з використанням бавовняного стерильного тампона. Витримувати 15 хвилин.

- Через 15 хвилин за допомогою 10 мм свердла на поверхні агару зробити лунки.

- 10 мг SILDUST, що містить 200 ppm срібного тальку і 100 ppm гентаміцину, ввести в одну лунку.

- 100 мкл гентаміцину 100 ppm ввести в іншу лунку. Також додати 200 ppm срібного тальку і 100 мкл дистильованої води - для контролю.

- Інкубувати при 37°C протягом 24 годин.

- Вимірити зону інгібування в мм за допомогою зонного вимірника HiMedia.

Результати: див. табл. 28 і Фіг. 38

91209

114

Ключ: SILDUST 1 - 200 ppm срібного тальку+50 ppm гентаміцину

SILDUST 2 - 200 ppm срібного тальку+00 ppm гентаміцину

SILDUST - антибактеріальна активність

Ціль: визначити час, за який SILDUST убиває мікроорганізми.

Методика:

Необхідне обладнання:

- інкубатор, ламінарний потік, лабораторні ваги.

Необхідні матеріали:

- стерильний феноловий червоний декстрозний бульйон, мікропіпетка, 16-ти годинні культури *Escherichia coli* (MDR), *Pseudomonas aeruginosa* (MDR), стійка до метициліну *Staphylococcus aureus* (10^8 КУО/мл)

Спосіб:

- Приготувати в стерильній пробірці 5 мл аліквоту, що містить 2 г SILDUST.

- Висіяти 0,1 мл культури поверх розчину. Ретельно змішати.

- Через часові інтервали 0, 5, 10, ... 50 хвилин висіяти петлю аналізованої речовини на 5 мл стерильного фенолового червоного декстрозного бульйону. Ретельно змішати.

- Інкубувати при 37°C протягом 24 годин.

- Спостерігати за ростом.

- Для негативного контролю петлю неінкульованого SILDUST суспендували в 5 мл стерильного фенолового червоного декстрозного бульйону і інкубували при 37°C протягом 24 годин.

- Для позитивного контролю петлю аналізованої культури суспендували в 5 мл стерильного фенолового червоного декстрозного бульйону і інкубували при 37°C протягом 24 годин.

Результати: див. табл. 29, 30, 31.

Таблиця 28

Чутливість SILDUST

Культура	Зона інгібування		
	100 ppm Гентаміцин	200 ppm ASAPTalc	SILDUST*
<i>Escherichia coli</i> (MDR)	24 мм	17 мм	26 мм

Висновок: була встановлена синергетична активність для SILDUST, що містить 200 ppm срібного тальку і 100 ppm гентаміцину.

Таблиця 29

Escherichia coli (MDR)

Інтервал часу (хвилини)	100 ppm Гентаміцин	200 ppm ASAP тальк	SILDUST*	Вокадін*
0	+	+	+	-
5	+	+	+	-
10	+	+	+	-
15	+	+	+	-
20	+	+	+	-
25	+	+	+	-
30	+	+	+	-
35	+	+	+	-
40	+	+	+	-
45	+	+	+	-
50	+	+	-	-
Позитивний контроль	+	+	+	+
Негативний контроль	-	-	-	-

SILDUST* → 200 ppm ASAP тальк+ppm гентаміцину

Вокадін* → 200 ppm завантаження

Ключ:

+ → Ріст.

→ Відсутність росту.

Висновок:

Комбінація показала синергетичну активність. Пробірка з вокадіном (обговорюється нижче наприкінці прикладу) стала коричневою через кілька

секунд після додавання пудри в середовище завдяки звільненню йоду. Хоча вокадін показує більш швидке знищення мікробів, така висока цитотоксичність небажана для загоєння ран.

Таблиця 30

Інтервал часу (хвилини)	100 ppm Гентаміцин	200 ppm ASAP тальк	SILDUST*	Вокадін*
0	+	+	+	-
5	+	+	+	-
10	+	+	+	-
15	+	+	+	-
20	+	+	+	-
25	+	+	+	-
30	+	+	+	-
35	+	+	+	-
40	+	+	-	-
45	+	+	-	-
50	-	-	-	-
Позитивний контроль	+	+	+	+
Негативний контроль	-	-	-	-

SILDUST* > 200 ppm ASAP Talc+ppm гентаміцину

Вокадін* > 200 ppm завантаження

Ключ:

+ → Ріст.

- → Відсутність росту.

Висновок: Комбінація виявляє синергетичну активність.

Таблиця 31

Інтервал часу (хвилини)	100 ppm Гентаміцин	200 ppm ASAP тальк	SILDUST*	Вокадін*
0	+	+	+	-
5	+	+	+	-
10	+	+	-	-
15	-	+	-	-
20	-	+	-	-
25	-	+	-	-
30	-	-	-	-
35	-	-	-	-
40	-	-	-	-
45	-	-	-	-
50	-	-	-	-
Позитивний контроль	+	+	+	+
Негативний контроль	-	-	-	-

SILDUST* > 200 ppm ASAP Talc+ppm гентаміцину

Вокадін* > 200 ppm завантаження

Ключ:

+ → Ріст.

- → Відсутність росту.

Висновок: Комбінація показала синергетичну активність.

SILDUST - антибактеріальна активність

Ціль: визначити чутливість бактеріофага-хазяїна до SILDUST.

Принцип:

Необхідно досягти потрібного розведення щоб усунути помилковий позитивний аналіз завдяки знищенню хазяїна SILDUST.

Методика:

Принцип:

- Т-парний бактеріофаг та Escherichia coli хазяїн застосовували як систему визначення.

Концентрація срібла в SILDUST має бути нейтралізована розчином так, щоб не вбити хазяїна. Експериментальні аліквати виготовили наступним чином:

1. Аналіз - фаг+SILDUST

2. Контроль - фаг+сольовий розчин

Необхідне обладнання:

Лабораторні ваги, установка для ламінарного повітряного потоку, інкубатор.

Необхідні матеріали:

Чашки Петрі, маркер, ланцет, мікропіпетка.

Спосіб:

- Приготувати 2,5 мл аліквоти, що містить близько 1 г SILDUST, що не показує бактерицидного ефекту і сольовий розчин в окремих стерильних пробірках для аналізу.

- До кожної додати 0,1 мл фагового лізату (близько 10^{10} інфективних фагових часток на мл).

- Ретельно змішати в пристрої, що змішує, і інкубувати при 37°C.

- У момент часу $t=0$, 1 та щогодини відбирати 0,5 мл аліквоти і додавати до первинного розчину SILDUST, що не показав бактерицидного ефекту.

- Капнути цей розчин на конфлюєнтний свіжовиготовлений бактеріальний газон. Це варто зробити як для аналізу, так і для контролю.

- Інкубувати пластину при 37°C протягом 24 годин.

- Змішати 0,1 мл цього розчину з 0,5 мл експоненціально зростаючого хазяїна і інкубувати при 37°C протягом 15 хвилин.

- Додати до нього 7 мл розплавленого м'якого агару.

- Ретельно змішати і покрити їм стерильну чашку з живильним агаром.

- Інкубувати пластину при 37°C протягом 24 годин.

- Зробити перевірку на утворення гемолітичних бляшок на газоні і пронумерувати на поверхні одиниці, що утворюють бляшки.

Результати: див. Таблицю 32.

SILDUST* > 200 ppm ASAP тальк+100 ppm гентаміцину.

Ключ:

+ Присутність активних фагових частинок.

> Відсутність фагових частинок.

Таблиця 34

Інтервал часу (години)	Сольовий розчин	SILDUST*
0	+	+
1	+	+
2	+	-
3	+	-

SILDUST* > 200 ppm ASAP тальк+100 ppm гентаміцина

Ключ:

TNTC → занадто чисельний для підрахунку.

КУО/мл - титр інфективних фагових частинок.

Висновок: було встановлено, що SILDUST не виявив бактерицидної активності проти культури хазяїна в 10^{-2} розведенні. Була перевірена антивірусна активність того ж розведення SILDUST, і було встановлено, що його ефективність. Було встановлено, що одиниці, що формують бляшки, зменшуються в кількості від 10^5 до 0 за 3 години, що доводить, що SILDUST може, імовірно, виявляти активність також проти вірусів тварин.

Застосовували наступну композицію в експериментах:

Композиція середовища:

Живильний агар:

Пептон 10 г,

Хлорид натрію 5 г,

М'ясний екстракт 3 г,

Дистильована вода 900 мл,

Агар 2,5 г,

pH 7,2±0,2.

Феноловий червоний декстрозний бульйон:

Протеоз пептон 10 г/л,

Яловичий екстракт 1 г/л,

Хлорид натрію 5 г/л,

Декстрога 5 г/л,

Червоний фенол 0,018 г/л,

pH 7,2±0,2.

М'який агар:

Агар 1%.

Сольовий розчин:

Хлорид натрію 0,9%.

Вокадін

Ліцензія виготовлювача №: AD/200-A

Партія №: WNR 5008

Дата виготовлення: Березень 2005

Термін зберігання: Березень 2008

Активний інгредієнт: йодований повідон IP 5% вага/вага.

Зроблено: Navketan Research and Lab. Ltd.

Додавання срібло/вода до 10% розчину йодованого повідону

Іншим прикладом добавки, що працює переважно з композицією срібло/вода за даним винаходом, є йодований повідон. Йод є добре відомим в медицині профілактичним засобом

32

SILDUST Pilot

Розчини	Результат
10^{-1}	+
10^{-2}	-
10^{-3}	-
10^{-4}	-

Ключ:

+ Присутність активних фагових частинок.

> Відсутність фагових частинок.

SILDUST - антивірусна активність

Ціль: визначити антивірусну активність SILDUST, використовуючи систему визначення на основі бактеріофага.

Методика: Така ж як і SILDUST - антибактеріальна активність частина 2.

Результати: див. табл. 33, 34.

Таблиця 33

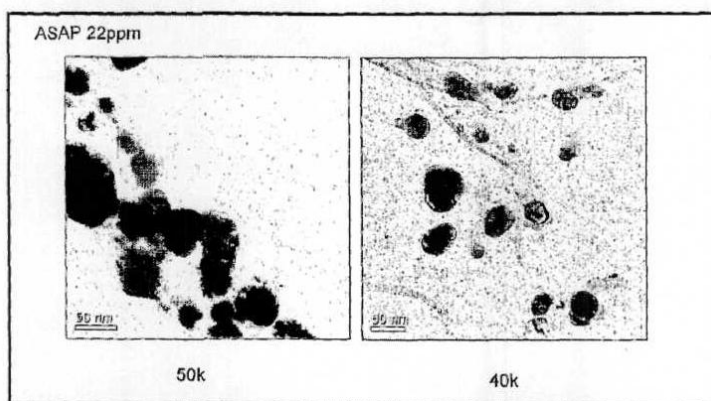
Розчини	Результат
10^{-1}	+
10^{-2}	-
10^{-3}	-
10^{-4}	-

боротьби з великою кількістю патологій. Йод комерційно доступний у різних концентраціях, але в даний момент використовується, що переважно, у концентрації 10%. У переважному варіанті здійснення даного винаходу синергитична комбінація містить близько 25-35% замінного об'єму суміші срібло/вода 10% йодним розчином. Хоча існує кілька можливих типів реакцій між сумішшю срібло/вода і йодом, за результатами експериментів було встановлено, що синергитична комбінація срібло/вода з йодованим повідоном має властивості найкращого дезінфектора (як мазь) та/або профілактичного засобу проти виникнення інфекцій у порізах, опіках, подряпинах і т. п.

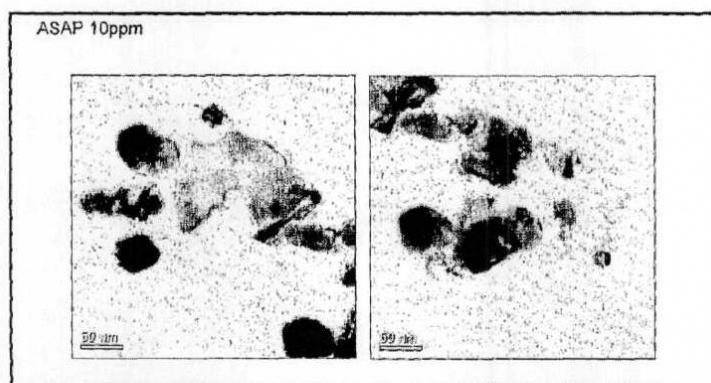
Конкретно, синергитична активність 32 ppm композицій срібло/вода разом з різними частками йодованого повідону була випробувана проти великої кількості різних бактерій. Способи аналізу і результати наведені далі. За результатами досліджень можна укласти, що змішування цих двох

речовин приводить до синергетичної взаємодії. Цей синергизм може бути використаний для створення ефективних місцевих дезінфікуючих засобів.

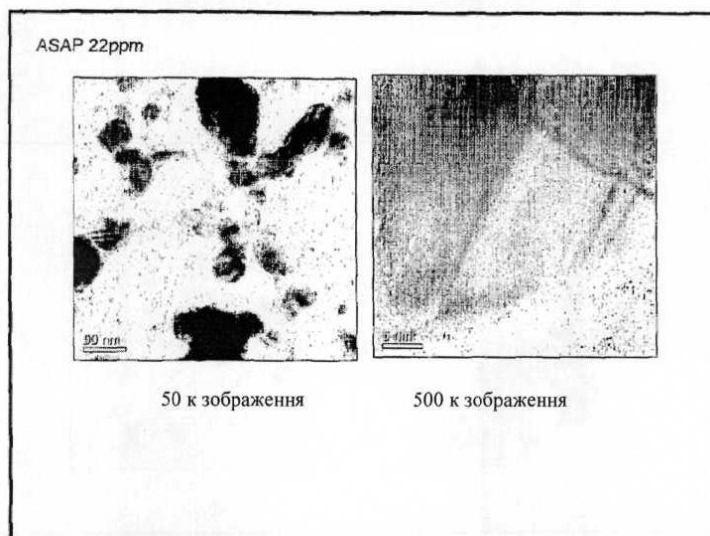
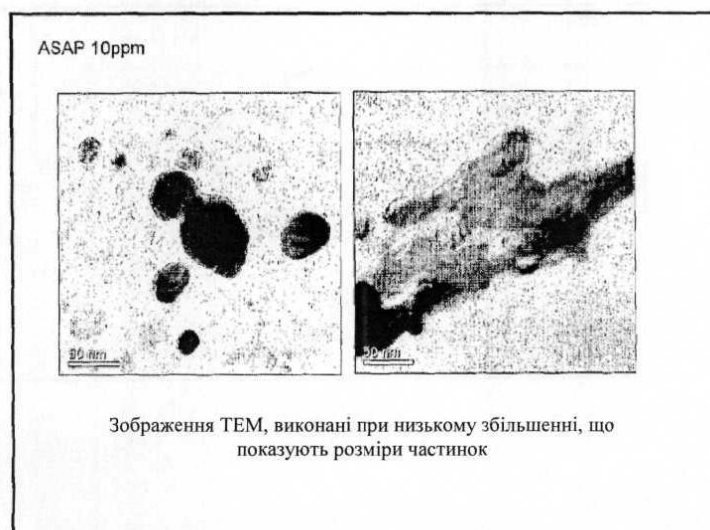
Далі приведена формула винаходу, з метою дати уявлення проте, що конкретно представлено й описано вище, поняття є концептуально еквівалентними, які можуть бути замінені і так що само включає суть винаходу. Фахівцям в даній галузі буде зрозуміло, що можливі різні застосування і модифікації описаного переважного варіанта здійснення даного винаходу, які не виходять за рамки даного винаходу. Приведений варіант здійснення був запропонований винятково з метою прикладу і не може розглядатися як такий, що обмежує об'єм даного винаходу. Тому, зрозуміло, що в рамках формули винаходу винахід може бути реалізований інакше, ніж описано в даному документі.

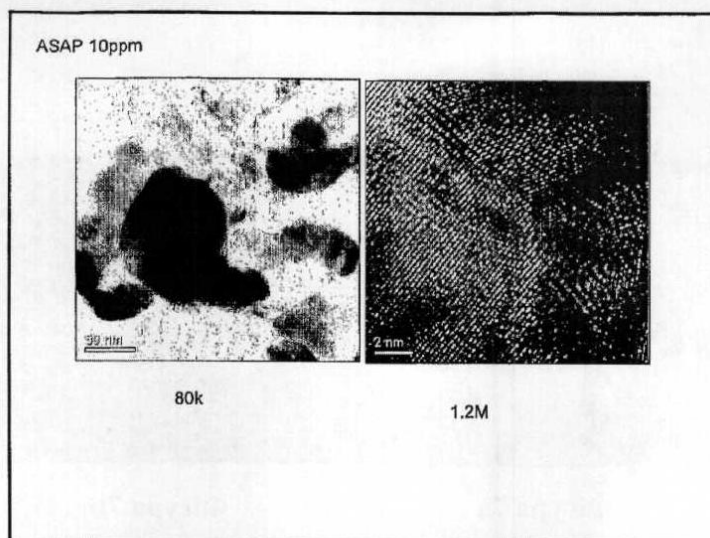
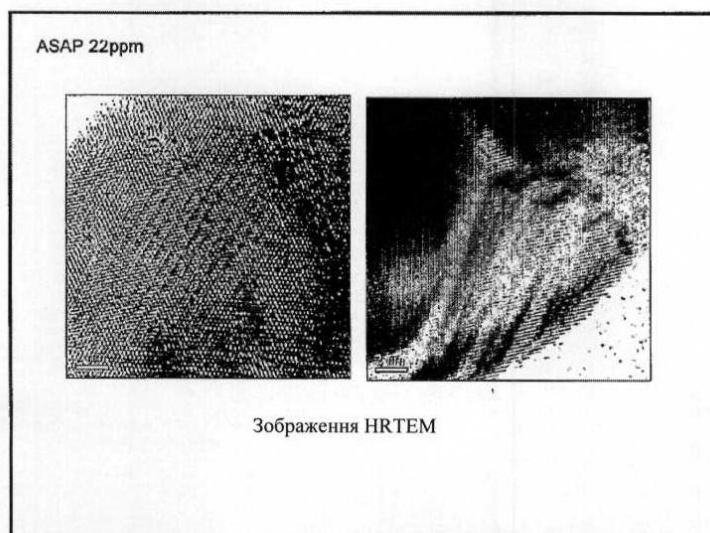
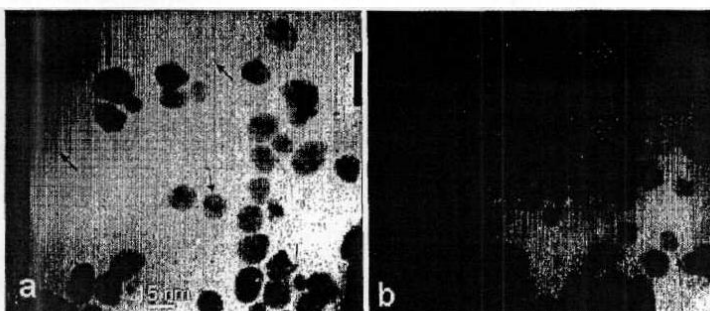


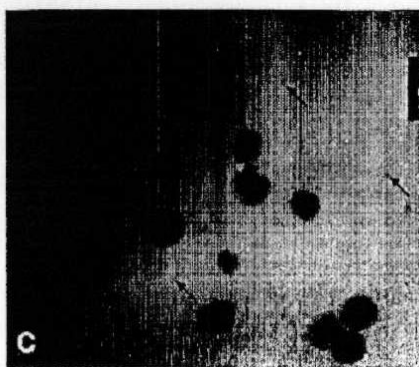
Фігура 1



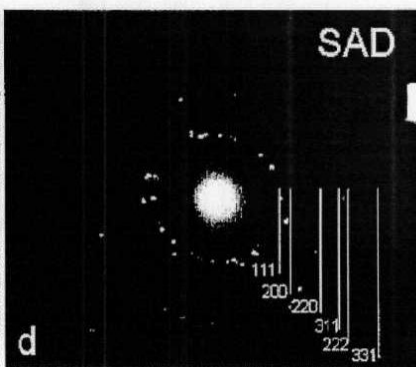
Фігура 2

**Фігура 3****Фігура 4**

**Фігура 5****Фігура 6****Фігура 7a****Фігура 7b**

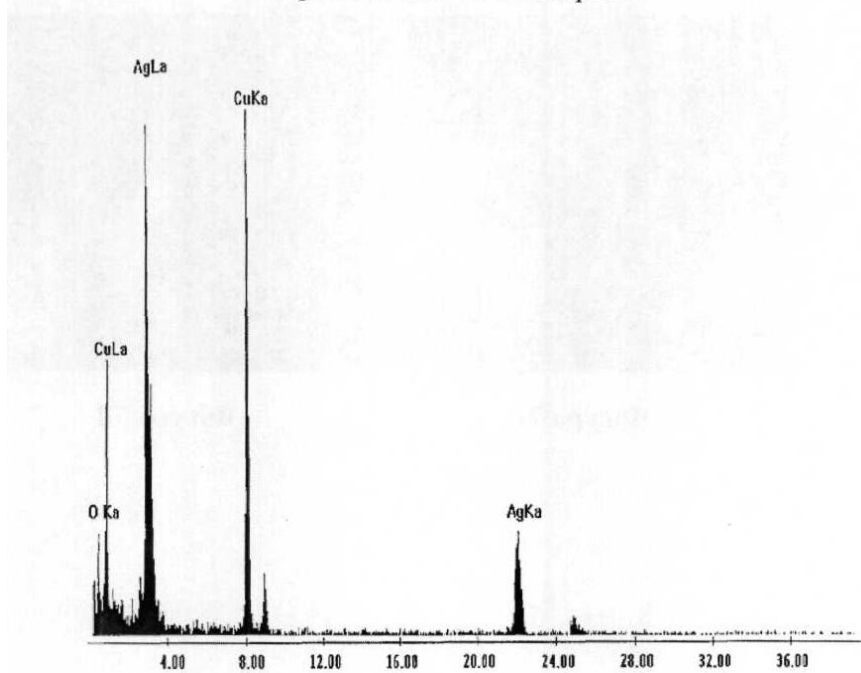


Фігура 7c



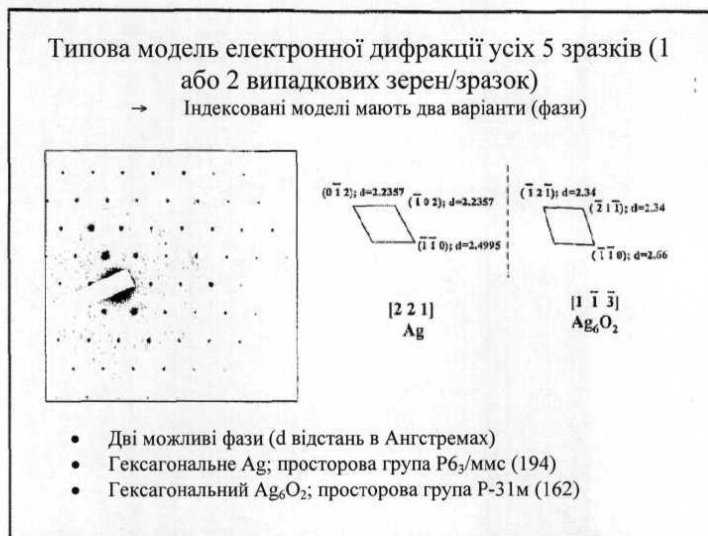
Фігура 7d

Спектр EDAX наночастинок срібла



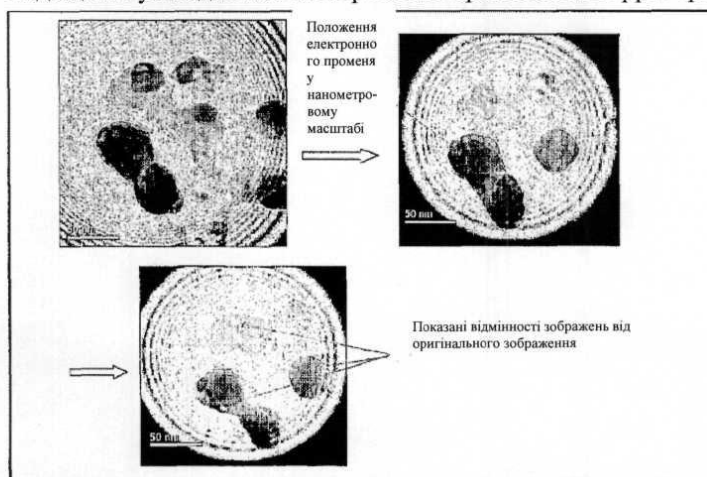
Виявлені Ag, Cu та O; кисень та мідь взяті із сітки TEM

Фігура 7e

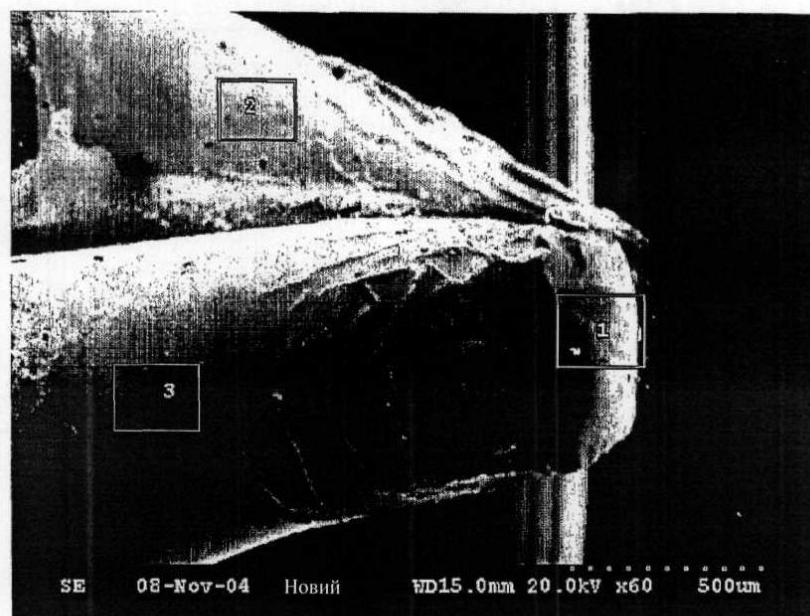


Фігура 8

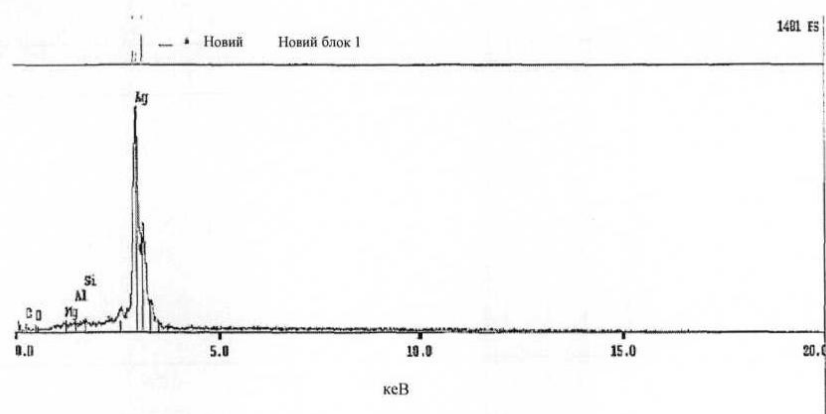
Радіаційне ушкодження електронного променя на 22 ppm срібла



Фігура 9

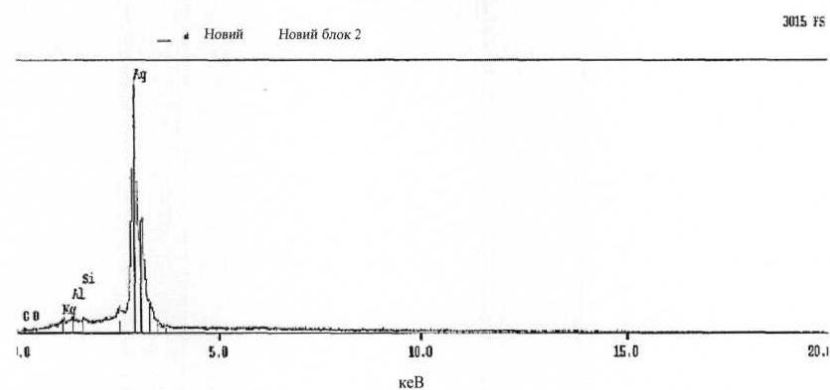


Фігура 10



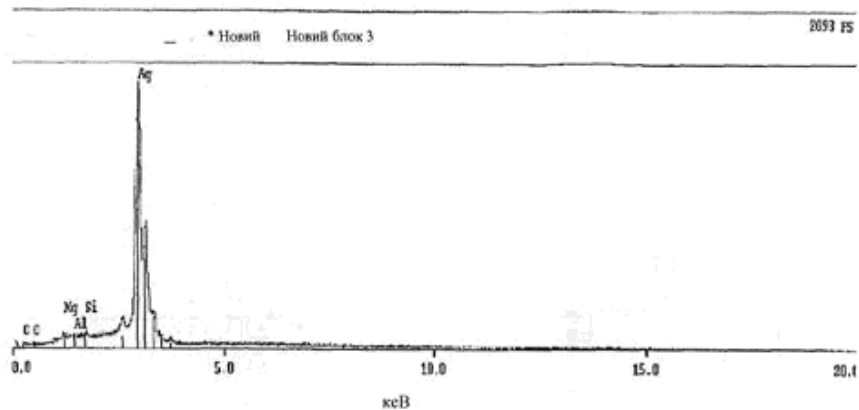
EDS елементний аналіз нового електродного блоку 1

Фігура 11



EDS елементний аналіз нового електродного блоку 2

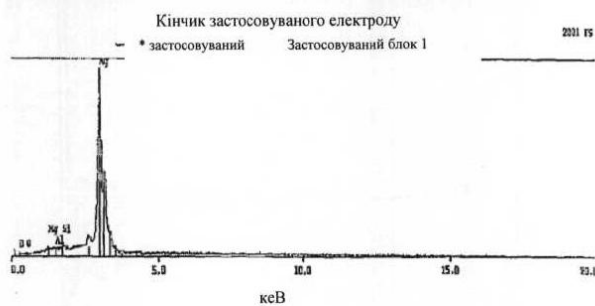
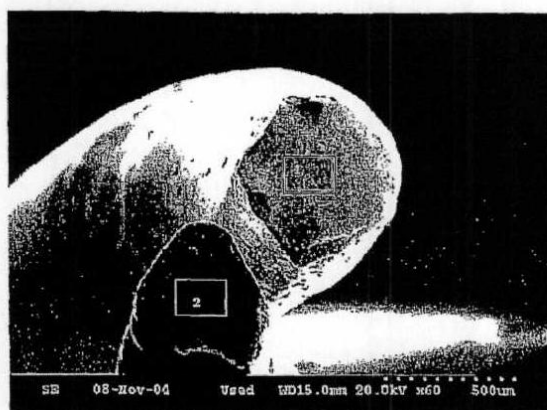
Фігура 12



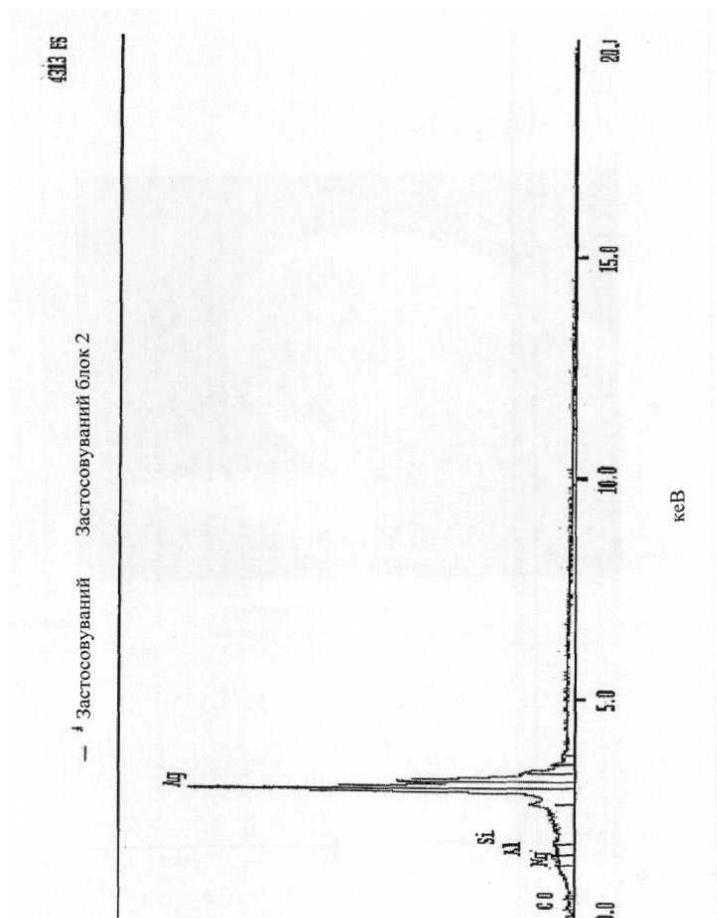
EDS елементний аналіз нового електродного блоку 3

Фігура13

Фігура 14



Фігура 15



EDS елементний аналіз застосовуваного електродного блоку 2

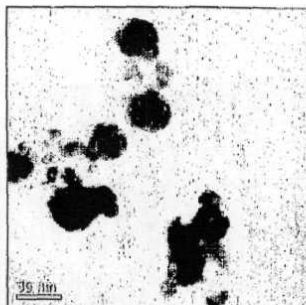
Фігура 16



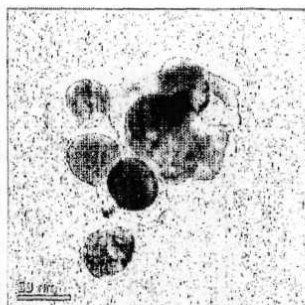
Кінчик застосовуваного електроду при збільшенні 3500X

Фігура 17

GNC рідке колоїдне срібло



Зображення 1 50 к

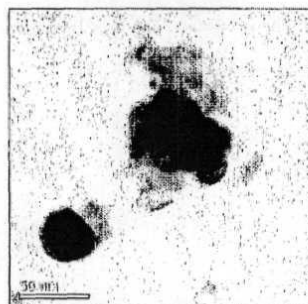


Зображення 7 80 к

ТЕМ зображення при низькому збільшенні, що показують розміри частинок у діапазоні 50 нм

Фігура 18a

GNC рідке колоїдне срібло

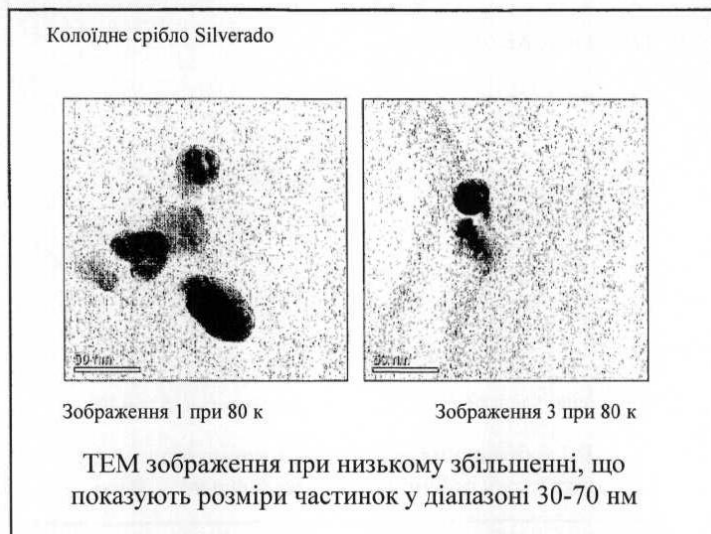
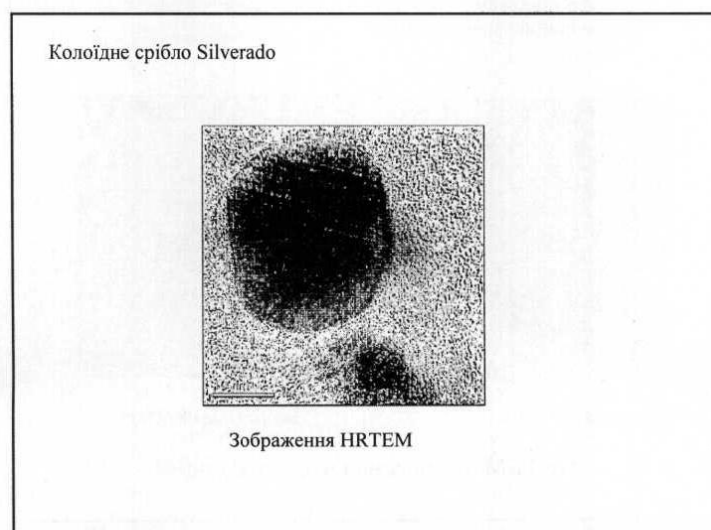


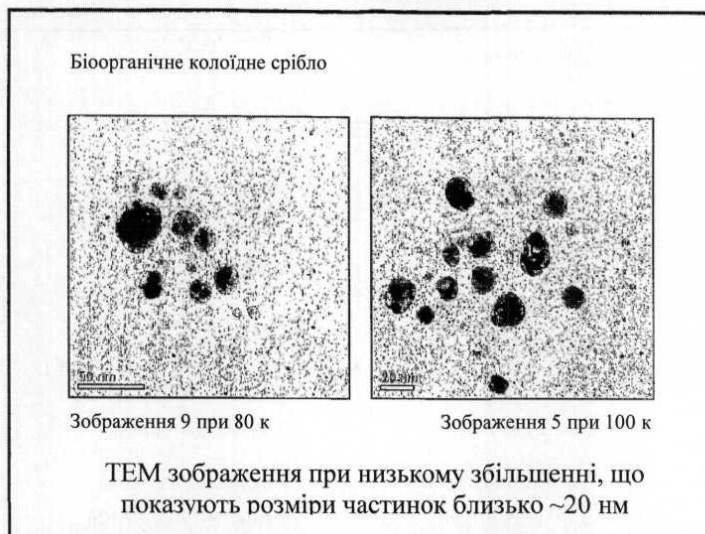
Зображення 8 80 к



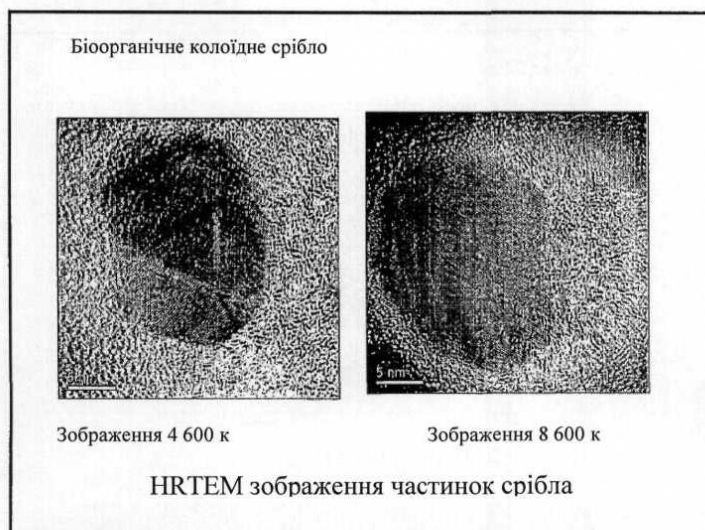
Зображення 9 80 к

Фігура 18b

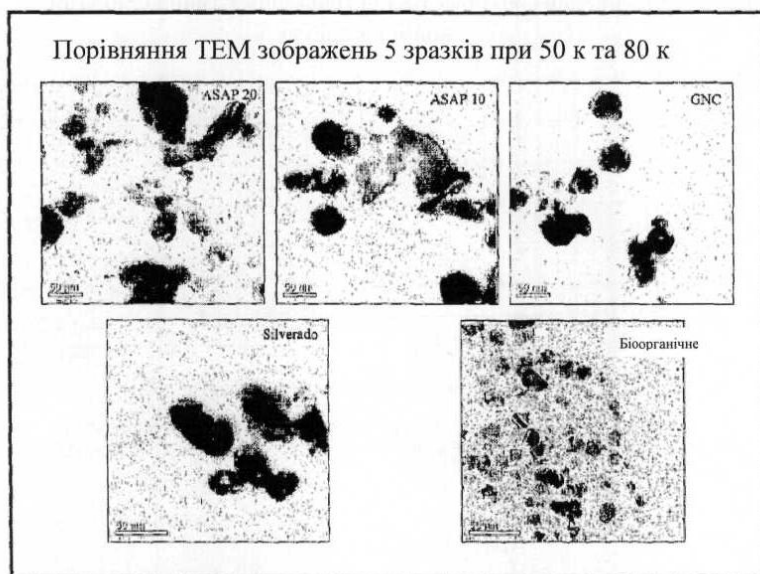
**Фігура 19а****Фігура 19b**



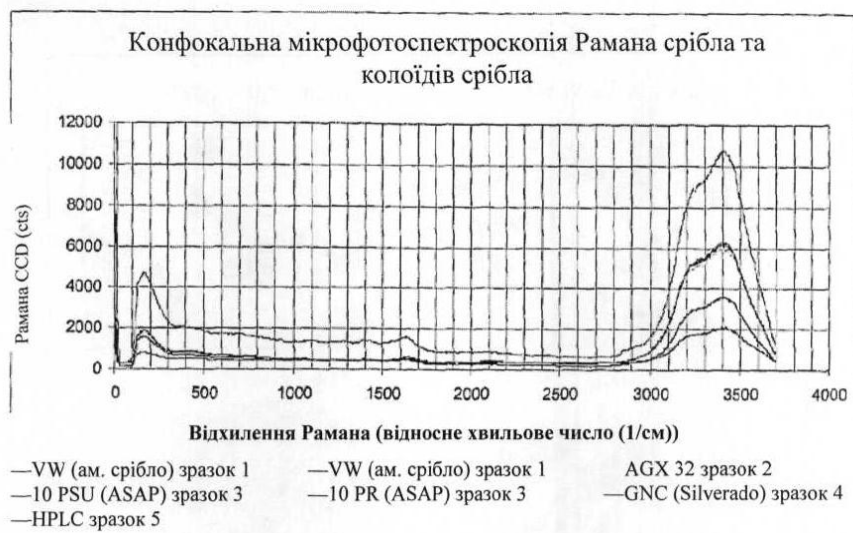
Фігура 20а



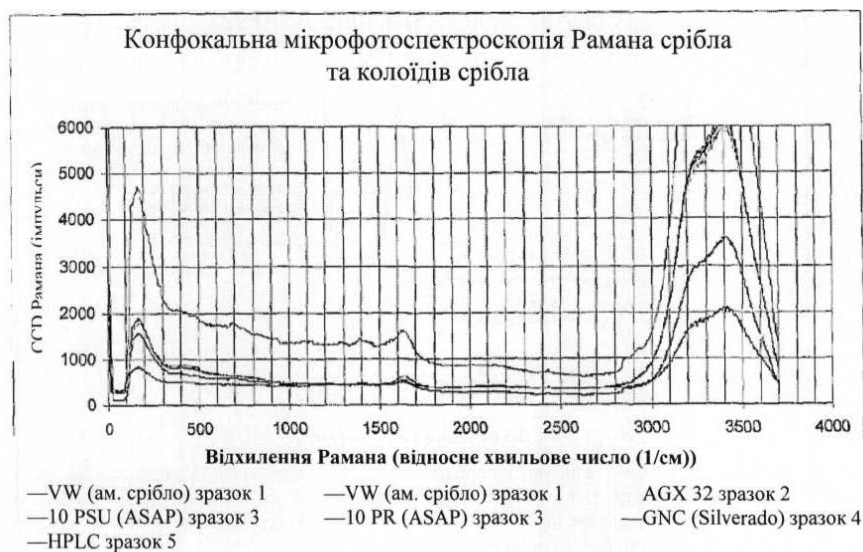
Фігура 20б



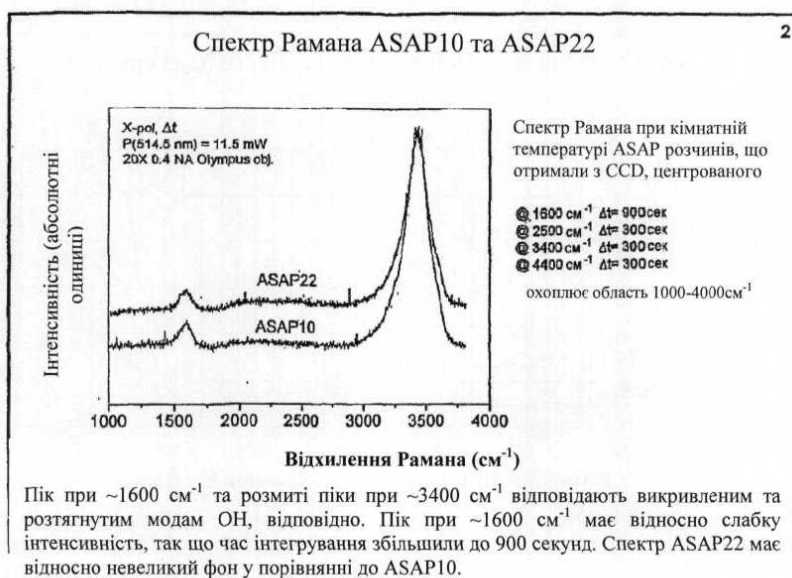
Фігура 21



Фігура 22а

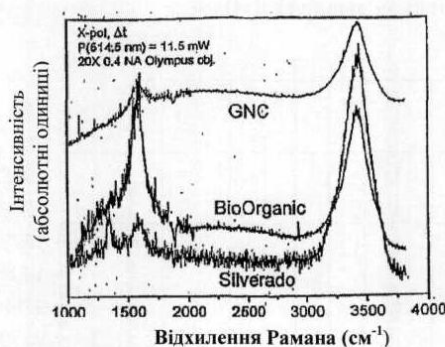


Фігура 22b



Фігура 23а

Спектр Рамана GNC, Silverado та BioOrganic

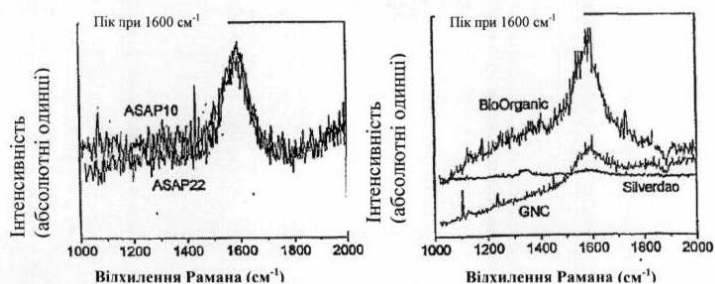


Спектр Рамана при кімнат. температурі розчинів срібла отримали для сітки флаконів з CCD, центрованим.

- @ 1600 cm^{-1} $\Delta t = 900 \text{ сек}$
- @ 2500 cm^{-1} $\Delta t = 300 \text{ сек}$
- @ 3400 cm^{-1} $\Delta t = 300 \text{ сек}$
- @ 4400 cm^{-1} $\Delta t = 300 \text{ сек}$

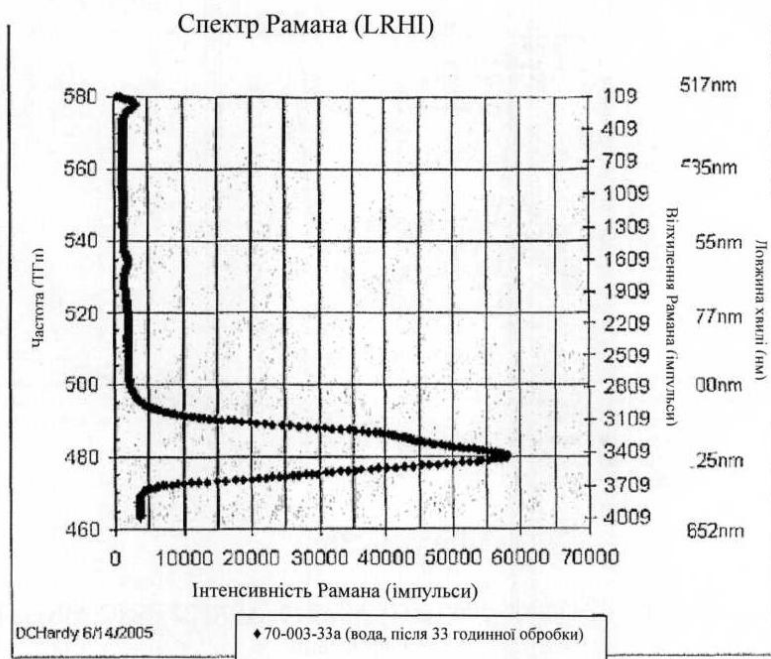
Явно має місце значний фон в спектрі GNC та BioOrganic, ймовірно через розсіювання домішками. Пік при $\sim 1600 \text{ cm}^{-1}$ та розмиті піки при $\sim 3400 \text{ cm}^{-1}$ відповідають викривленим та розтягнутим модам OH, відповідно.

Фігура 23b

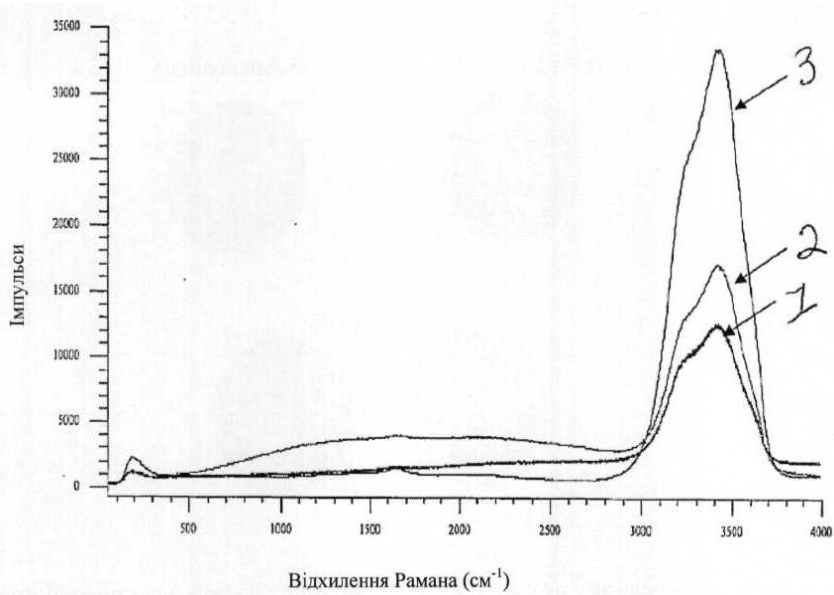
Спектр Рамана ($1000\text{--}2000 \text{ cm}^{-1}$) ASAP10, ASAP22, GNC, Silverado та BioOrganic

Явно має місце значний фон в спектрі GNC та BioOrganic, ймовірно через розсіювання домішками. Крім того, піки є асиметричними у порівнянні з ASAP розчинами.

Фігура 23c



Фігура 24a



Фігура 24b

А Автономія



В Антагонізм

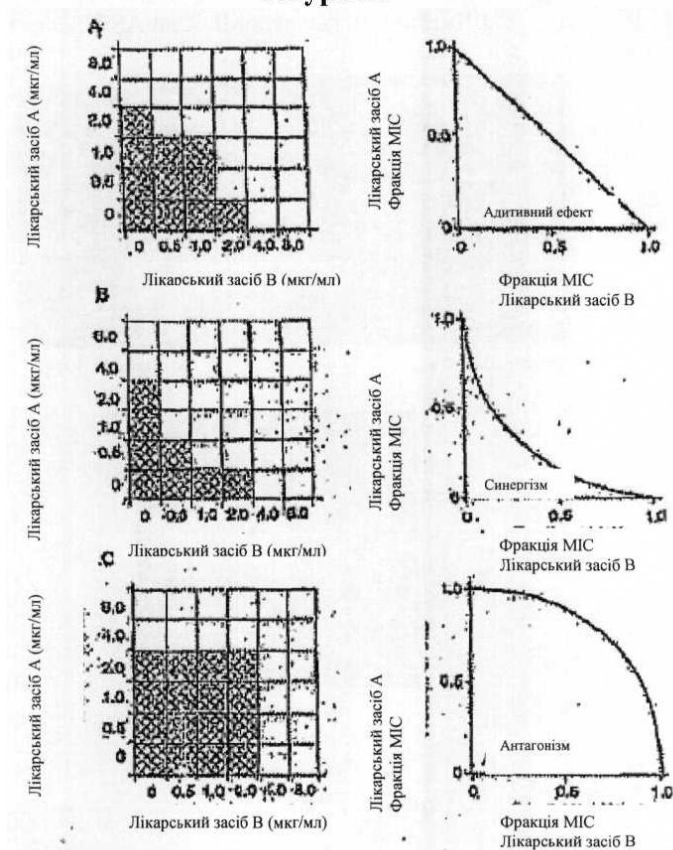


С Синергізм



Діаграма можливих взаємодій в тесті дифузії з дисків для синергії проти бактерій

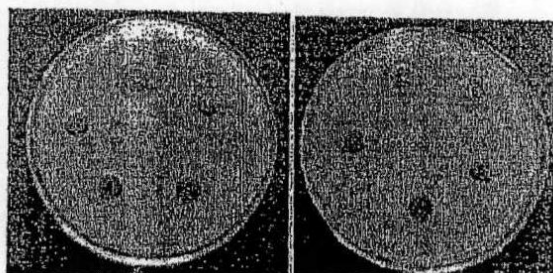
Фігура 25



Титування способом шахівниці у відношенні протимікробної синергії

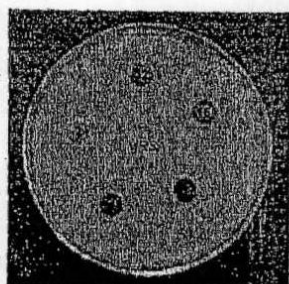
Фігура 26

1 Чутливість ізолятів MDR до ASAP



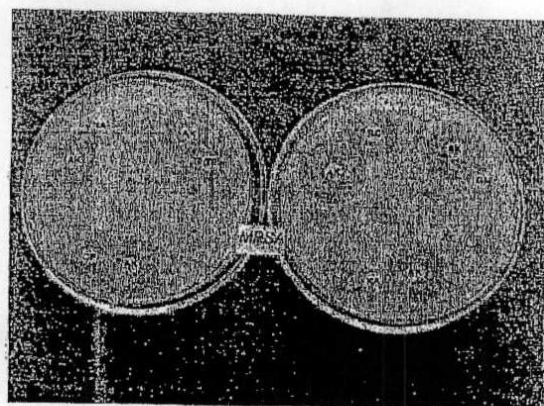
Фотографія: 1.a

Фотографія: 1.b



Фотографія: 1.c

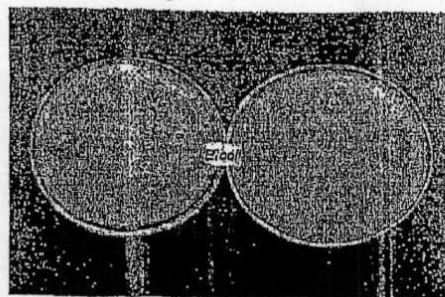
Фігура 27



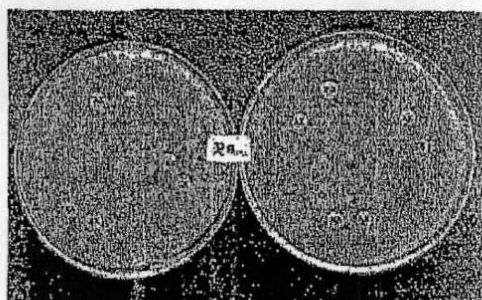
Антибіотичні комбінації для MRSA

Фігура 28

Фігура 29

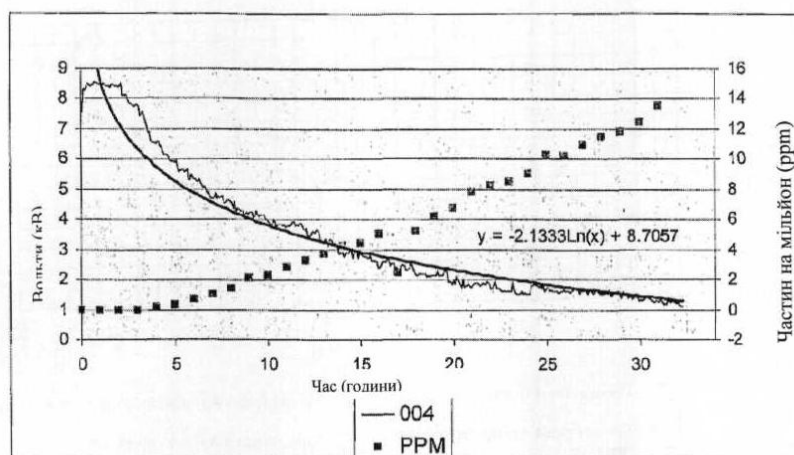


Антибіотична комбінація для *E. coli*

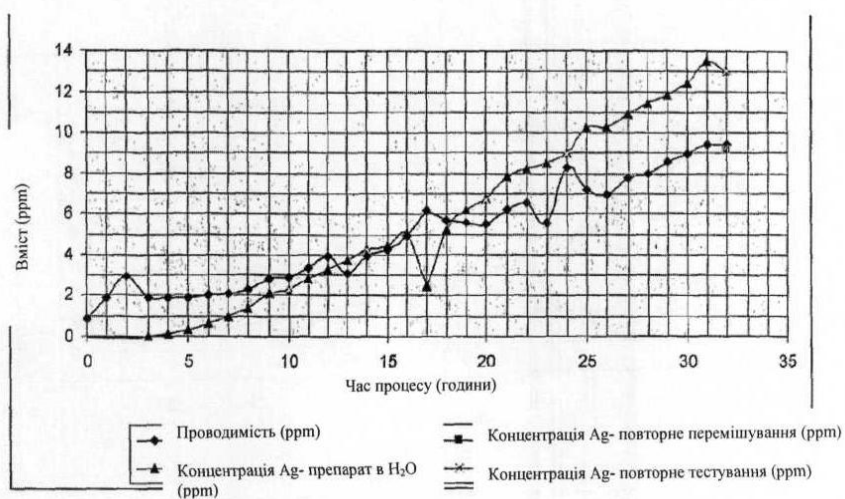


Антибіотична комбінація для *Pseudomonas*

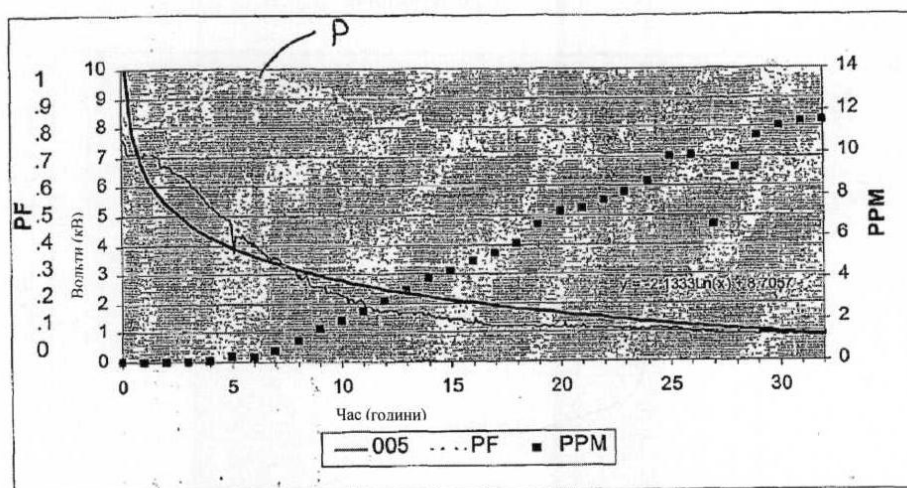
Фігура 30



Фігура 31

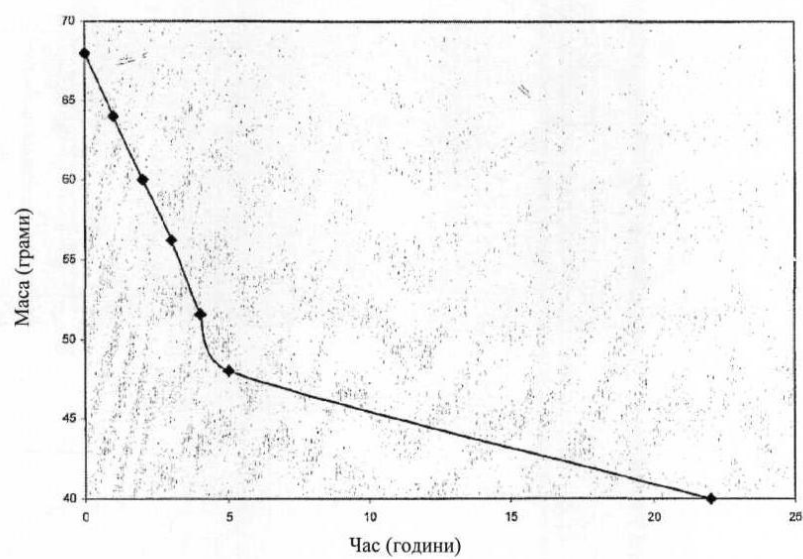


Фігура 32



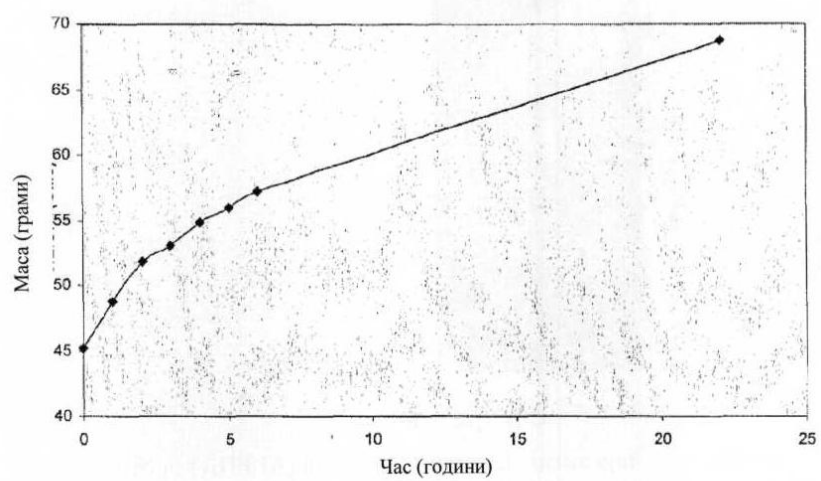
Фігура 33

Втрата води



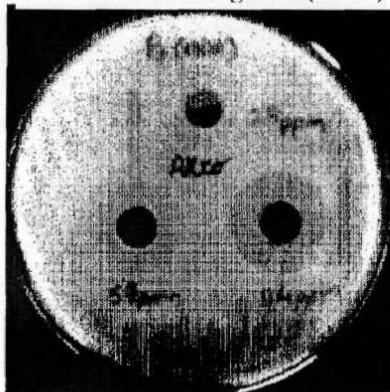
Фігура 34

Поглинання води



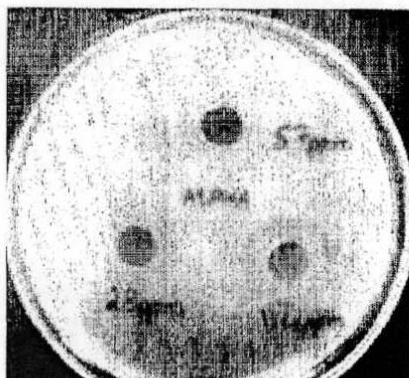
Фігура 35

Протибактеріальна активність хелатів срібла (Akzo) проти *Pseudomonas aeruginosa* (MDR)

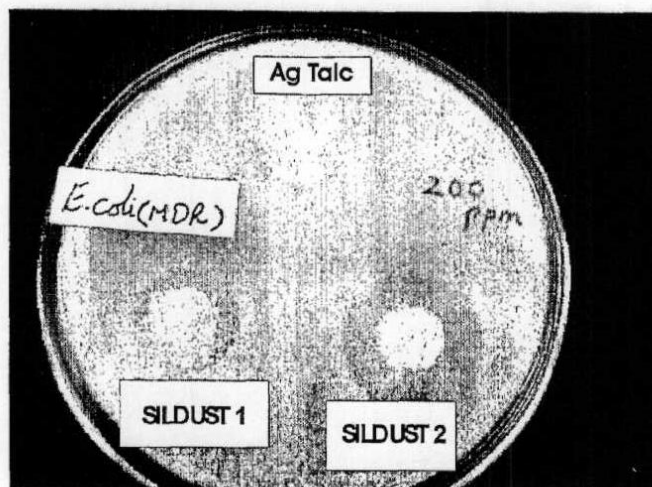


Фігура 36

Протибактеріальна активність хелатів срібла (ALPHA) проти *Pseudomonas aeruginosa* (MDR)



Фігура 37

Чутливість *E. coli* (MDR) до SILDUST

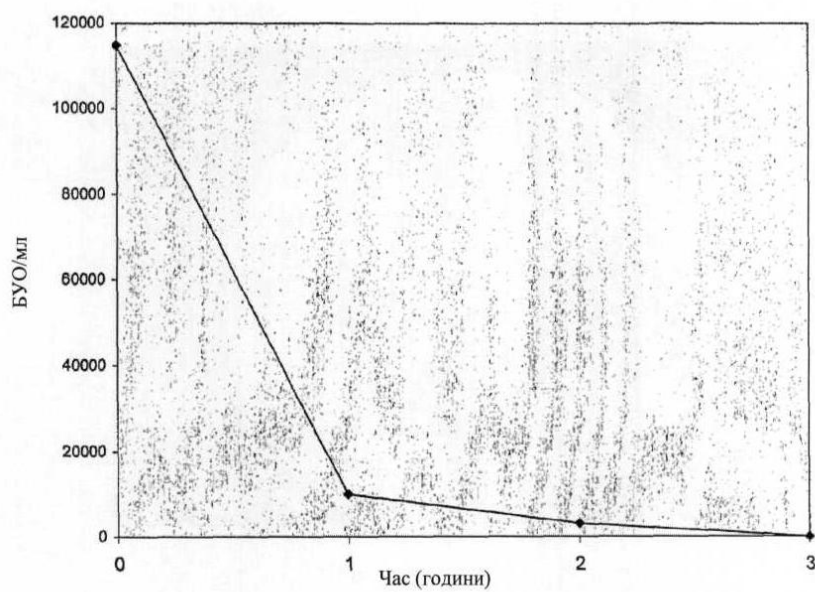
Фігура 38

Позначення:

SILDUST1 – 200 ppm Срібло-талк + 50 ppm гентаміцину

SILDUST2 – 200 ppm Срібло-талк + 100 ppm гентаміцину

Противірусна активність SILDUST



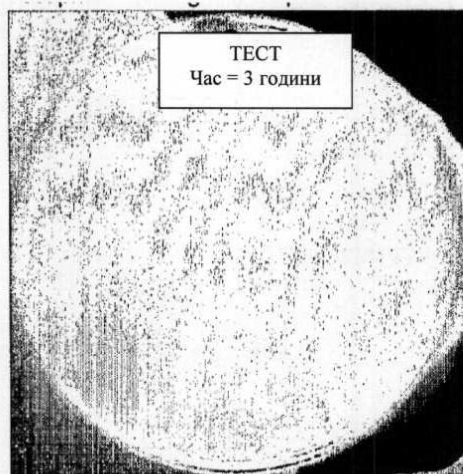
Фігура 39

Контроль, що показує бляшки

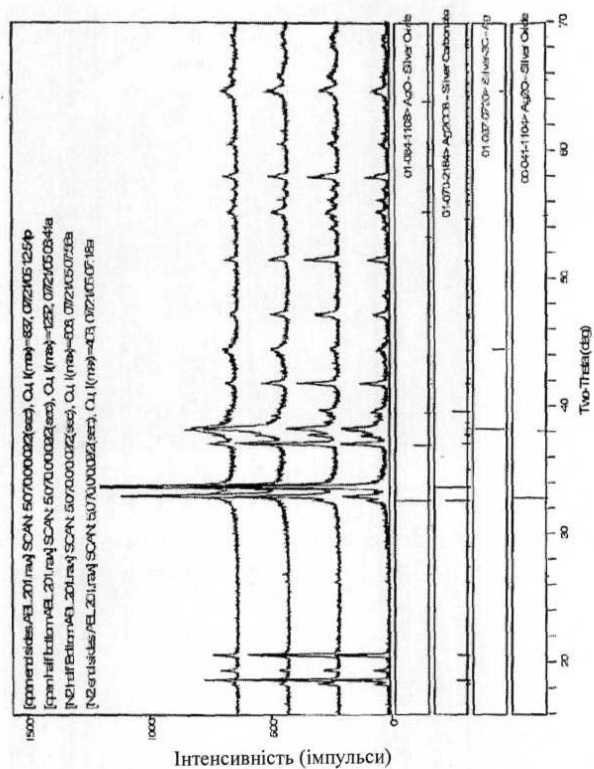


Фігура 40

Тестова чашка, що показує відсутність бляшок через 3 години



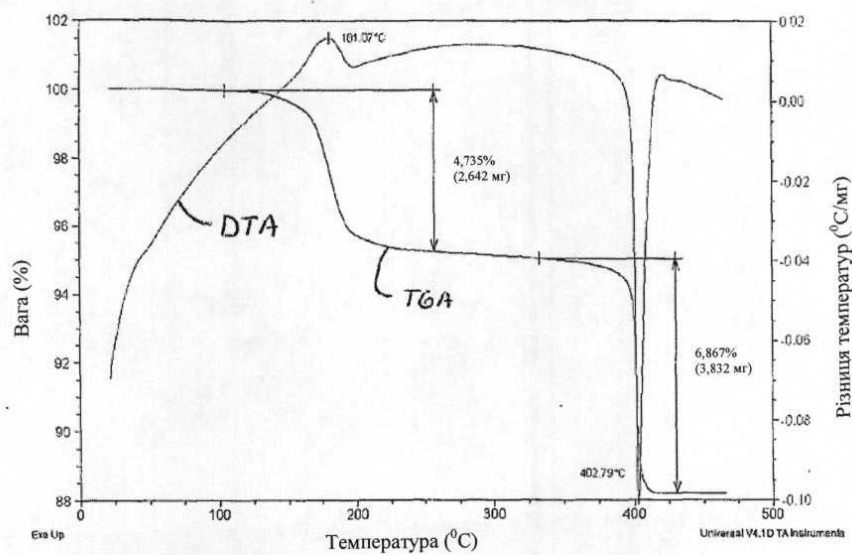
Фігура 41



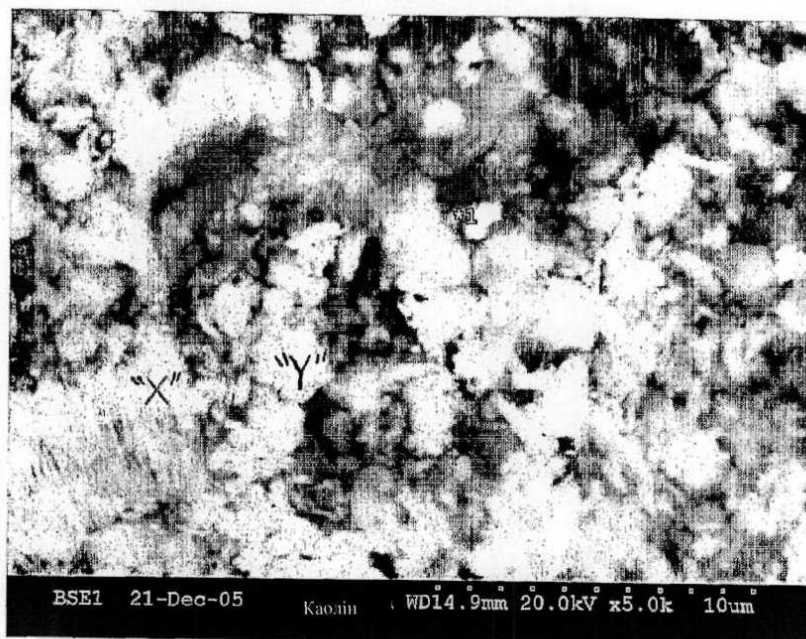
Моделі дифракції рентгенівських промінів – ABL 200 ppm,
висушені в атмосфері N₂

Фігура 42

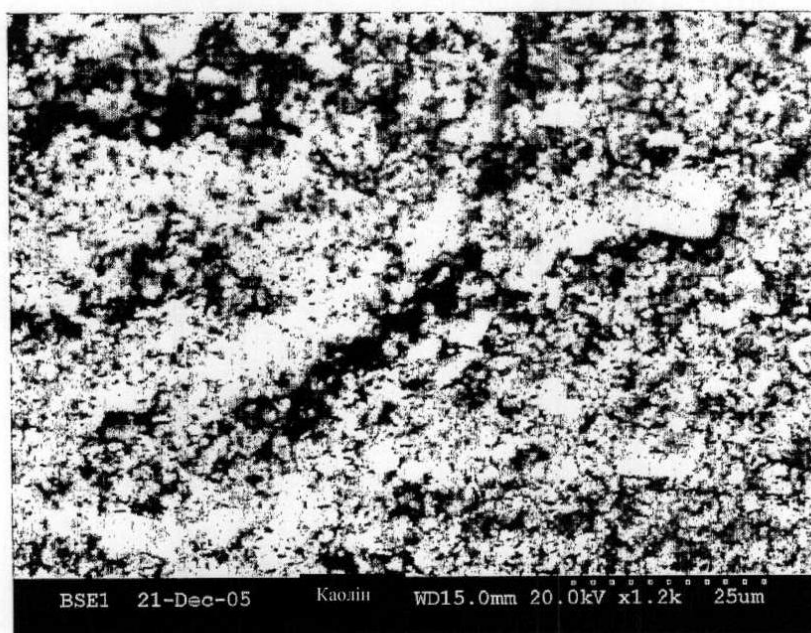
TGA-DTA



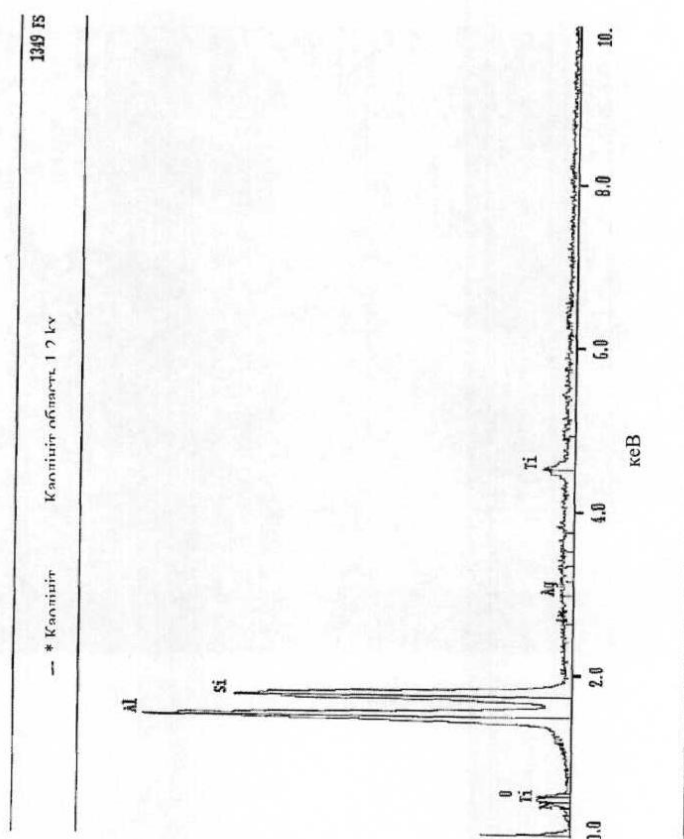
Фігура 43



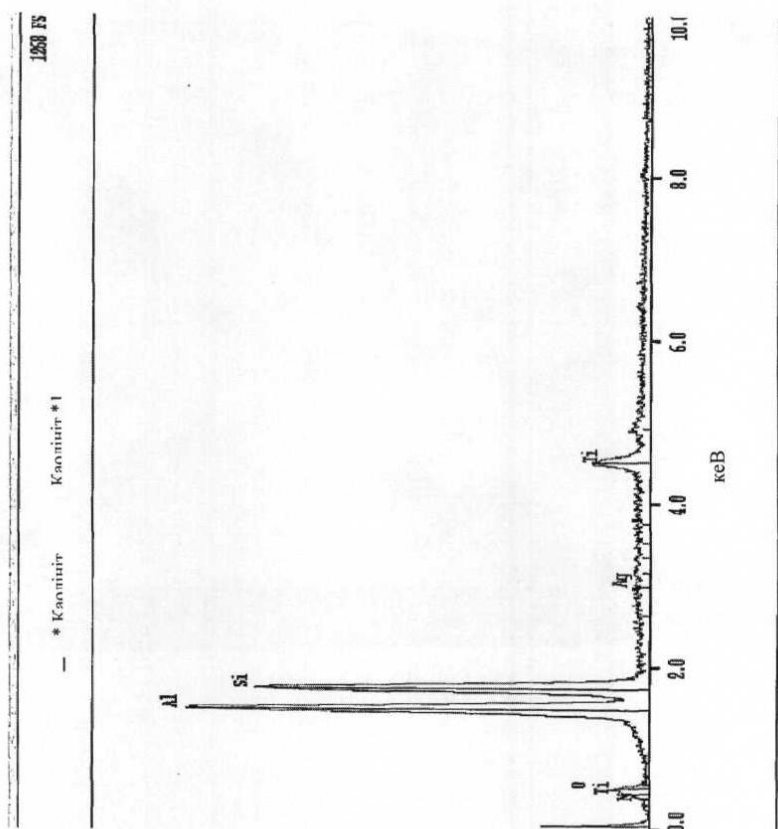
Фігура 44a



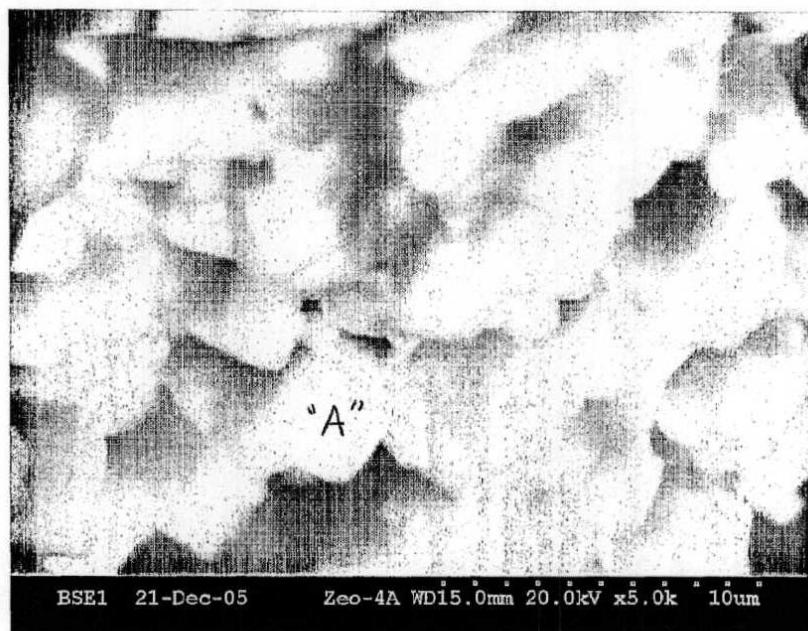
Фігура 44b



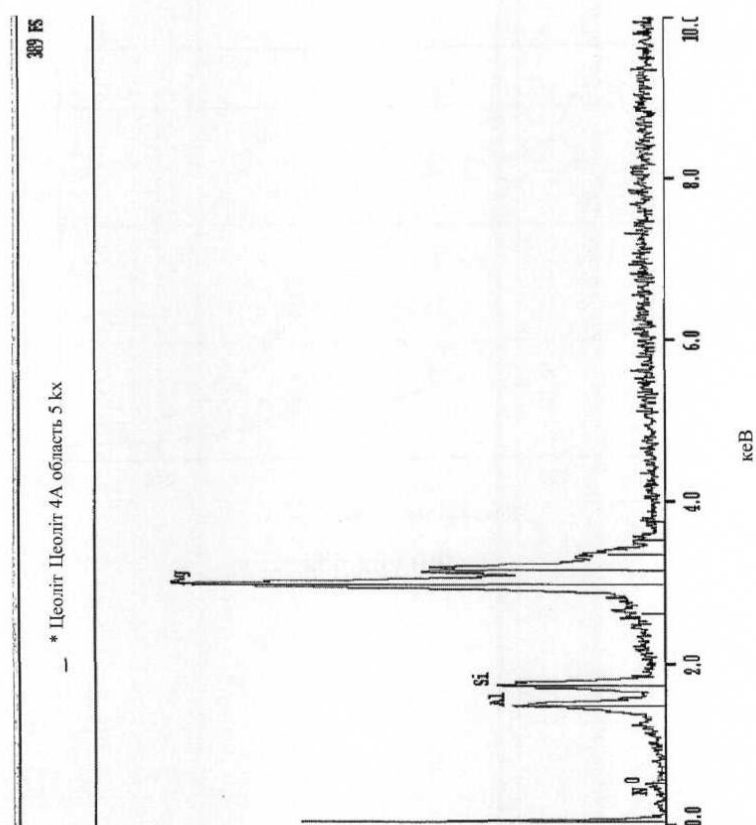
Фігура 45a



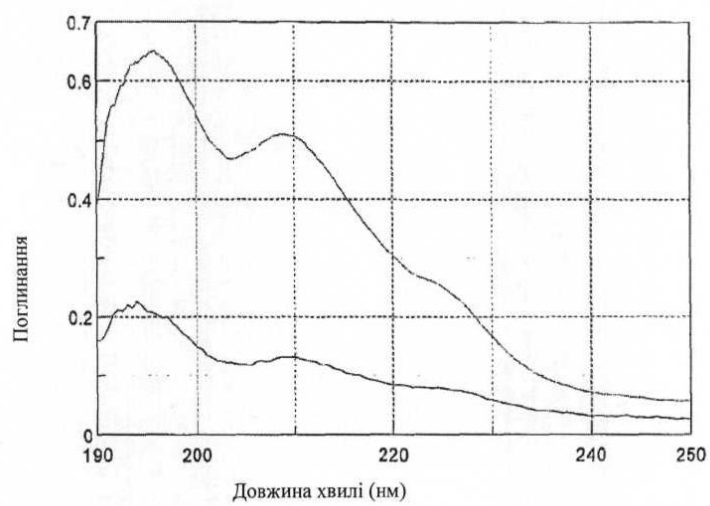
Φίγυρα 45b



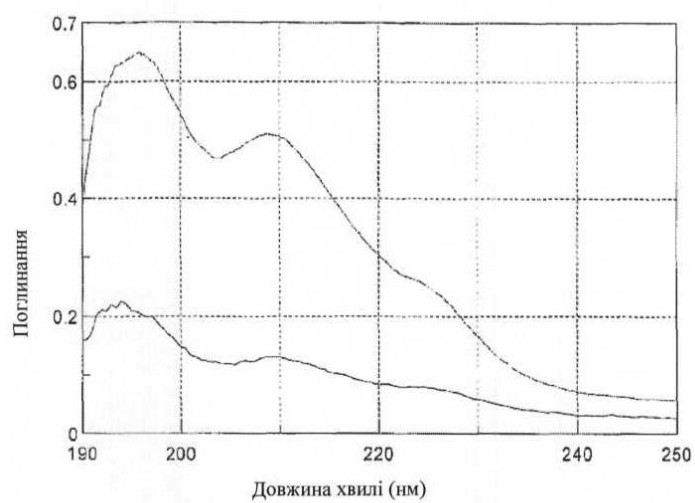
Φίγυρα 46



Фігура 47



Фігура 48а

**Фігура 48b**

В описі до патенту на винахід графічні зображення та текст подаються в редакції заявника

Комп'ютерна верстка О. Гапоненко

Підписне

Тираж 28 прим.

Міністерство освіти і науки України

Державний департамент інтелектуальної власності, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601